

SÉRIE A, N° 582
N° D'ORDRE
4312

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Gabriel PERRIN

DOCTEUR EN MÉDECINE

1^{re} THÈSE : RECHERCHES SUR LES PROTHALLES DES POLYPODIACÉES.

2^e THÈSE : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 12 Novembre 1908, devant la Commission d'examen.

MM. G. BONNIER . . . *Président.*

VÉLAIN. . . }
CHATIN. . . } *Examineurs.*

CLERMONT-FERRAND

IMPRIMERIE P. RACLOT, 8, Rue Prévôte

1908

SÉRIE A, N° 382
N° D'ORDRE
1312

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

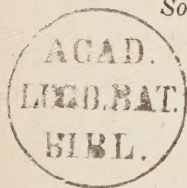
Gabriel PERRIN

DOCTEUR EN MÉDECINE

1^{re} THÈSE : RECHERCHES SUR LES PROTHALLES DES POLYPODIACÉES.

2^e THÈSE : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 12 Novembre 1908, devant la Commission d'examen.



MM. G. BONNIER . . . *Président.*
VÉLAIN. . . {
CHATIN. . . { *Examineurs.*

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE P. RACLOT, 8, Rue Prévôte

1908

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

<i>Doyen</i>	P. APPELL, <i>Professeur</i> . .	Mécanique rationnelle.
<i>Doyen honoraire</i>	G. DARBOUX	Géométrie supérieure.
<i>Professeurs honoraires</i> .	L. TROOST.	
	Ch. WOLF.	
	J. RUBAN.	
	LIPPMANN	Physique.
<i>Professeurs</i>	BOUTY	Physique.
	BOUSSINESQ	Physique mathématique et Calcul des probabilités.
	PICARD	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
	H. POINCARÉ	Astronomie mathématique et Mécanique céleste.
	Y. DELAGE	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	G. BONNIER	Botanique.
	DASTRE	Physiologie.
	DITTE	Chimie.
	KENIGS	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN	Géographie physique.
	GOURSAT	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	CHATIN	Histologie.
	PELLAT	Physique.
	HALLER	Chimie organique.
	JOANNIS	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	P. JANET	Physique. —
	WALLERANT	Minéralogie.
	ANDOYER	Astronomie physique.
	PAINLEVÉ	Mathématiques générales.
	E. HAUG	Géologie.
	TANNERY	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	RAFFY	Application de l'Analyse à la géométrie.
	HOUSSAY	Zoologie.
	LE CHATELIER	Chimie.
	N.	Chimie biologique.
	N.	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	N.	Physique.
	N.	Zoologie, (Évolution des êtres organisés.)
<i>Professeurs adjoints</i> . .	PUISEUX	Mécanique et Astronomie.
	LEDUC	Physique.
	HADAMARD	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	MATRUCHOT	Botanique.
	MICHEL	Minéralogie.
	BOUEVAULT	Chimie organique.
	BOREL	Théorie des fonctions.
	G. PRUVOT	Anatomie comparée.
	CAULLERY	Zoologie, (Évolution des êtres organisés.)
<i>Secrétaire</i>	A. GUILLET.	

A Monsieur GASTON BONNIER,
MEMBRE DE L'INSTITUT,
PROFESSEUR A LA SORBONNE.

*Hommage respectueux
et témoignage de vive reconnaissance.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RECHERCHES

SUR LES

PROTHALLES DES POLYPODIACÉES

CHAPITRE PREMIER

CULTURE DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES

La culture des prothalles est assez délicate à obtenir : elle demande des conditions de milieu, de température, de lumière et d'humidité qui ne peuvent se déterminer que par tâtonnement.

I. — Conditions de milieu.

La première idée qui vient à l'esprit lorsqu'on veut faire germer des spores de Fougères, c'est de se placer dans les conditions où cette germination se fait naturellement. Les Fougères croissant surtout dans les bois, sur des sols perméables, à surface recouverte de terre de bruyère, il convient donc d'essayer de faire germer les spores sur cette terre.

Mais cette terre à elle seule est trop hygrométrique ; elle absorbe l'eau facilement et se transforme en bouillie, aussi, est-il nécessaire de mettre, au-dessous, de la marne très argileuse, que l'humidité doit traverser avant d'arriver à la terre de bruyère. Le procédé employé se réduit donc à tasser au fond d'un vase de la marne, ou, à défaut, de l'argile, à placer au-dessus quelques centimètres de terre de bruyère, finement tamisée, et une ou deux pincées de poussière de charbon pour absorber les gaz produits

par la fermentation des matières organiques qui peuvent se trouver dans cette terre.

Le vase est porté dans un four à 100° pour stérilisation, et placé, après refroidissement, dans un cristallisoir à demi-plein d'eau bouillie.

Les spores sont alors semées à la surface du vase que l'on recouvre d'une lame de verre ; au bout de huit à dix jours, si les conditions de température et d'humidité nécessaires sont réalisées, ces spores ne tardent pas à germer.

Les semis infructueux, en prenant les précautions indiquées, tiennent, non au milieu, mais aux spores. Très souvent, en effet, on essaye de faire germer des spores recueillies sur des frondes âgées de trois ou quatre ans. Le résultat est généralement négatif. Les spores ne conservent pas très longtemps, comme les graines, leur pouvoir germinatif.

Ayant semé, en nous entourant de toutes les précautions voulues, des spores de trois ans de *Pteris cretica*, *Polystichum Oreopteris*, *Aspidium falcatum*, *Polypodium vulgare* et *Blechnum Spicant*, aucune n'a germé. Il en a été de même pour les spores de deux ans. L'expérience, recommencée avec des spores de six mois à un an, a donné des résultats très satisfaisants avec *Pteris cretica* et *Polypodium vulgare*, qui ont fourni des touffes de prothalles comme des spores nouvelles, mais en revanche peu satisfaisants avec *Asplenium Trichomanes*, *Aspidium falcatum* et *Blechnum Spicant*. GEBEL (1) avait déjà remarqué que la capacité de germination des spores peut s'éteindre rapidement. Ayant rapporté, de son voyage d'études dans l'Amérique du Sud, un grand nombre de spores de Polypodiacées exotiques, aucune n'a pu donner un prothalle, bien que placées dans les meilleures conditions. Les spores d'*Equisetum* semblent même perdre plus rapidement encore que les spores de Fougères leur faculté germinative, puisque, d'après DUVAL-JOUVE (2), aucune ne peut germer quinze jours après la sporose.

Done, pour obtenir des résultats certains, il est indispensable de semer des spores fraîches. Encore ne faut-il pas, comme il nous

(1) Gæbel : *Archegoniatenstudien*. Flora, 1896.

(2) Duval-Jouve : *Histoire naturelle des Equisetum de France*. Paris, 1864.

est arrivé au début, semer les spores obtenues par grattage des sporanges ou froissement des frondes fertiles desséchées. La maturité des spores de Fougères correspond, en général, à celle des sporanges, contrairement à ce qui se passe pour les Mousses ; mais l'action mécanique qui agit sur le sporange provoque sa déhiscence et la sortie des spores avant le temps normal ; il en résulte que l'on sème des spores non mûres et que leur aspect jaunâtre est, le plus souvent, dû aux particules de sporanges qui les entourent.

Pour avoir des spores mûres, le mieux est de placer un papier blanc au-dessous d'une fronde en fructification, sur laquelle on a pulvérisé une solution de sublimé à deux pour mille, et de laisser ce papier en place pendant quelques jours, en ayant soin de mettre la fronde à l'abri des courants d'air qui entraîneraient la poussière formée par les spores. Si les sporanges sont mûrs, on ne tarde pas à voir sur le papier, une poussière jaunâtre qui est constituée par les spores. Ce sont ces spores qu'il faut semer si l'on veut être certain d'avoir des résultats positifs. Il ne faut pas d'ailleurs oublier qu'avec les meilleures spores, il en est qui germent beaucoup plus tardivement que d'autres. Si réussies que soient les cultures, on trouve toujours à côté de prothalles assez développés, des spores venant à peine de germer, et même des spores encore closes, bien que très saines.

Le procédé ci-dessus convient à merveille pour avoir rapidement et sûrement des prothalles de Fougères ; ces prothalles sont dans des conditions presque naturelles et fructifient en abondance. Mais, si ce procédé est excellent pour l'étude des prothalles adultes, il laisse par contre fort à désirer pour l'étude de la germination des spores ; celles-ci sont en effet perdues au milieu des particules terreuses de bruyère et presque impossibles à retrouver, même à la loupe. D'autre part, la formation prothallienne du début est peu visible ; la chlorophylle n'apparaît, en quantité, qu'assez tardivement, de sorte qu'il est impossible d'étudier ainsi les premiers phénomènes de la germination. D'ailleurs, on ne peut affirmer par ce procédé, la stérilité du milieu et des spores semées malgré les précautions prises ; cela n'a aucune portée sans doute pour l'étude du prothalle et de sa fructification, mais rend les recherches physiologiques impossibles.

Enfin, la culture sur terre de bruyère incomplètement stérilisée, ne permettrait pas d'affirmer que les spores de Polypodiacées, contrairement à ce qui se passe pour les graines d'Orchidées, n'ont pas besoin d'un milieu infesté pour germer, ni d'une moisissure vivant en symbiose sur le jeune prothalle pour se développer. Or, cette opinion a été émise et défendue tout au moins pour les Lycopodiacées et les Filicinées inférieures. GÆBEL (1) a indiqué en 1887 la présence constante de champignons endophytes sur les prothalles de Lycopodes trouvés par lui dans leur station naturelle. D'après Bernard Noël (2), ATKINSON a trouvé en 1893 un champignon symbiotique dans toutes les espèces de *Botrychium* et d'*Ophioglossum*. METTENIUS, bien avant, décrivant les prothalles d'*Ophioglossum pedunculosum* trouvés dans le voisinage de la plante mère, avait déjà signalé la présence de cellules infestées à la partie inférieure de ces prothalles.

La culture en milieu stérile pouvait seule montrer que les prothalles des Polypodiacées n'avaient pas besoin d'endophyte pour se développer.

A cet effet, nous avons pris des matras d'un litre de capacité, environ, et de très large ouverture ; nous les avons à moitié rempli de liquide nutritif, rendu semi-fluide par addition de gélose à 1 pour 100. Ces ballons recouverts d'un bouchon d'ouate hydrophile et d'un capuchon en verre étaient stérilisés à l'autoclave.

La stérilisation des spores était plus délicate, car il était nécessaire de détruire les germes situés à leur surface sans porter atteinte à leur faculté germinative. Il ne fallait guère songer à les plonger directement dans la liqueur de Van Swieten et à les y laisser séjourner dix minutes au moins, temps minimum de stérilisation, car cette liqueur détruit leur pouvoir germinatif, vu le peu d'épaisseur de la cuticule.

De tels essais faits avec *Pteris cretica*, et *Polypodium vulgare* ne nous donné aucun résultat.

Ne pouvant stériliser les spores, il n'y avait qu'à stériliser les sporanges, par passage des feuilles dans une solution de sublimé à

(1) Gæbel : *Ueber Prothallien und Keimpflanzen von Lycopodium inundatum*. (Bot. Zeit. 1887.

(2) Bernard Noël : *Sur quelques germinations difficiles* (Rev. gén. bot. 1900.

deux pour mille, pendant dix minutes environ. Ces feuilles étaient ensuite lavées à l'eau bouillie, épongées dans des buvards chauffés préalablement à 100°, et mises à sécher à une température de 50° environ dans des tubes à essai, où l'on recueillait les spores. Ces spores étaient ensuite placées dans les ballons nutritifs stérilisés, en renversant les tubes à essai dans le col de ces ballons, après avoir enlevé les débris de feuilles sporangifères qu'ils contenaient ; il faut avoir soin que le semis soit léger pour que les spores germent à distance.

La contamination des cultures n'était donc à craindre qu'au moment de l'ensemencement ; mais, avec quelques précautions, on parvient facilement à opérer en milieu stérile. Si d'ailleurs la liqueur nutritive reste liquide et claire, c'est qu'elle n'a pas été contaminée étant donné qu'elle constitue un milieu favorable au développement des moisissures et des bactéries. M. Marcel Groult, qui s'est occupé, au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne, de la culture des prothalles, stérilisait également les spores par ce procédé qui lui a donné, comme à nous, d'excellents résultats.

Restait à déterminer le meilleur milieu nutritif.

Pour cela, nous nous sommes servi de larges tubes à essai, que nous avons recouverts, après stérilisation et ensemencement, d'un peu de ouate hydrophyle et d'un capuchon en verre. Les milieux nutritifs étaient toujours obtenus avec des engrais minéraux purs et la solution rendue semi-fluide par addition de gélose à 1 pour 100. La composition suivante, étudiée pour le développement des prothalles de *Pteris cretica* et *Polypodium vulgare*, est celle qui nous a donné les meilleures résultats :

Azotate de calcium . . .	1 gr.
Azotate de potassium. . .	1 gr.
Phosphate bicalcique . . .	0 gr.5
Sulfate de magnésie . . .	0 gr.5
Sulfate de fer	0 gr.5
Glucose	2 gr.
Eau distillée.	1000 gr.

Ce mélange est celui de Sachs légèrement modifié. Le sulfate de calcium est remplacé par de l'azotate. On sait en effet, d'après

les travaux de PALLADINE (1), que l'assimilation chlorophyllienne est activée par l'apport de nitrates, ce qui n'est pas sans influencer le développement des prothalles. D'autre part, nous avons ajouté à cette solution 2 pour 1000 de glucose, ayant remarqué, comme M. Marcel GROULT, que les prothalles se développent particulièrement en milieux sucrés.

La solution de KNOPP, à elle seule, ne nous a pas donné de très bons résultats, vu l'absence d'azotate ; celle de DETMER, tout en se rapprochant davantage de la solution employée, ne paraît pas également assez riche en nitrates.

Si l'on veut employer ces liqueurs, il faut les additionner d'une plus grande quantité de glucose, 3 pour 1000 environ. M. Marcel GROULT a obtenu, au laboratoire de la Sorbonne, de belles cultures de *Polystichum Filix-mas*, *Pteris aquilina*, *Asplenium Ruta-muraria*, en employant des solutions très sucrées.

Les cultures ainsi obtenues conviennent à merveille pour les expériences physiologiques et prouvent surabondamment que, contrairement à ce qui se passe chez les Orchidées, les Lycopodiacées et Filicinées inférieures, les spores, pour germer et se développer, n'ont pas besoin d'endophyte.

Toutefois, si l'on veut étudier les premiers phénomènes de la germination de la spore et les étapes successives du début de la formation du prothalle, la culture dans l'eau stérilisée est préférable. La formation des premières cellules prothalliennes est assez lente pour qu'on puisse en suivre toutes les transformations.

D'autre part, par ce procédé, le développement du prothalle étant limité, on peut établir sa forme au moment où les réserves de la spore sont épuisées. .

Les semis sur buvard blanc, imbibé d'eau, conviennent pour fixer l'époque précise du début de la germination, car les premiers grains de chlorophylle qui apparaissent dans la cellule prothallienne, produisent sur le buvard une tache verte prononcée. Mais pour l'examen des jeunes prothalles, ce procédé est très inférieur à celui de la culture dans l'eau, car il est très difficile de détacher les spores sans enlever de nombreuses fibres de papier. De plus,

(1) Palladine. *Influence des sels minéraux sur l'assimilation chlorophyllienne* (C. R. de l'Acad. des Sciences. 1899).

les jeunes prothalles formés par la germination de la spore sur l'eau peuvent être conservés très longtemps à l'état de vie latente, puisque M. Marcel GROULT en ayant placé dans un milieu nutritif, après un an, a vu la croissance reprendre et ces prothalles arriver à fructification. Cette remarque est surtout importante pour montrer les précautions prises par la nature pour assurer, malgré des conditions climatiques défavorables, la reproduction des Fougères par les spores.

II. — Conditions de température.

La germination naturelle des spores de Fougères se fait à des températures très variables, mais la formation rapide du prothalle demande une température variant entre 20 et 25 degrés. Aussi, bien que les spores de Fougères soient nombreuses, très peu d'entre elles donnent naturellement un prothalle complet. Il ne nous est pas arrivé souvent, de trouver sous des pieds de Fougères des prothalles bien développés, et cependant nos recherches depuis deux ans ont été fréquentes ; toutefois, à vrai dire, ces prothalles étaient nombreux et formaient des touffes semblables à celles des cultures artificielles ; c'est ce qui nous a permis de les étudier avec soin et de constater que ces prothalles étaient, dans presque tous les cas, hermaphrodites et ne manifestaient aucune tendance à la dioécie.

Pour être exact, il convient d'ajouter que la plupart des spores tombées sur le sol germent ; quelques-unes même commencent à germer dans le sporange lorsque celui-ci est ouvert ; mais cette germination se limite à la déchirure de l'exospore et à la formation d'un petit renflement pluricellulaire sortant de l'endospore ; il est probable que les conditions de température ambiante jouent un rôle dans cet arrêt de développement qui ne peut se poursuivre que par une température déterminée.

Après plusieurs essais, nous avons constaté que les températures comprises entre 20 et 25 degrés convenaient le mieux pour la germination rapide de la spore et le développement du prothalle de la plupart des Polypodiacées.

Dans nos cultures les spores étant couvertes par une lame de

verre; cette température est un peu supérieure dans le vase à germination, à cause du pouvoir transmissif du verre pour la chaleur lumineuse et de son pouvoir absorbant pour la chaleur obscure. Aussi, dès que la germination est commencée, est-il nécessaire d'enlever cette lame de verre, une ou deux heures par jour, faute de quoi la température est trop élevée à l'intérieur du vase à culture, ce qui gêne le cloisonnement cellulaire. On constate même, lorsque le prothalle est développé, qu'il est préférable de le laisser à l'air libre de la serre pendant une partie de la journée, pour éviter qu'il *flétrisse* et *fonde*, suivant le langage imagé des horticulteurs. Il va sans dire qu'on ne peut procéder ainsi que pour les études morphologiques ou histologiques des prothalles ; pour les expériences de physiologie, il est impossible d'opérer dans ces conditions lorsqu'il s'agit de mesurer les échanges gazeux. Dans ce cas, on a de fréquents succès, dus en partie à la température intérieure dans les ballons à culture, température qu'il est difficile de régler. Pour éviter cet échauffement intérieur, nous conseillons de placer les ballons à la lumière diffuse, dans une demi-obscurité. Lorsque les prothalles sont bien développés et par suite moins sensibles aux variations de température, ils peuvent être exposés à la lumière solaire faible.

En résumé, nos cultures ont été faites dans la serre des Orchidées du Jardin des Plantes de Clermont-Fd, à des températures variant de 25 à 35 degrés, et ne nous ont donné, en général, que d'excellents résultats.

III. — Conditions de lumière.

Comme il était facile de le prévoir, les prothalles se développent mal à l'insolation directe ; en quelques heures ils se flétrissent.

La lumière diffuse, seule, leur convient, les plaçant ainsi dans des conditions naturelles ; encore cette lumière doit-elle être très faible. Les prothalles souffrent moins d'une demi-obscurité que d'une lumière vive.

Nous étudierons d'ailleurs, par la suite, l'action des différentes sortes de lumière sur la germination des spores et le développement des prothalles ; qu'il nous suffise de savoir pour le moment

que les cultures doivent être placées à l'ombre et ne pas être, sous aucun prétexte, exposées à l'action de rayons solaires qui ne tarderaient pas à les détruire.

IV. — Conditions d'humidité.

Les prothalles aiment l'eau ; leur formation ne peut se faire que par des temps humides. Ces deux conditions de température et d'humidité sont nécessaires pour leur développement ; elles sont assez rarement réalisées dans la nature pour que la majorité des spores, comme nous le disions plus haut, ne se développent pas.

En effet, lorsque la température s'élève, l'état hygrométrique de l'air baisse pour une même teneur en vapeur d'eau, de sorte que ce n'est qu'en hiver, époque où l'air est généralement saturé, que la spore trouve les conditions d'humidité nécessaires à son développement ; mais à ce moment les conditions de température ne sont plus réalisées. Aussi, la plupart des Fougères de nos bois se multiplient-elles beaucoup plus par leurs rhizomes qu'elles ne se reproduisent par les spores.

Le développement des prothalles exige donc un air saturé de vapeur d'eau avec une température de 20 degrés en moyenne. S'il est facile d'obtenir la température de 20 degrés dans les serres, il est plus difficile d'obtenir, dans les grandes serres du moins, la saturation de l'air. Cependant, ces deux conditions se trouvent réalisées dans la serre des Orchidées du Jardin des Plantes de Clermont-Ferrand, voisine du laboratoire de botanique de la Faculté des Sciences. Cette serre est petite, chauffée au thermosiphon, et a son air saturé par de l'eau tombant en pluie dans un bassin central. Elle remplit donc les meilleures conditions pour obtenir des cultures excellentes.

Notons que lorsque les prothalles ont un certain développement et semblent s'étouffer dans les pots, nous les espaçons dans des caisses pleines de terre de bruyère et les arrosons, par la surface, comme on le fait pour les autres plantes. Là, les frondes peuvent se développer plus librement, et, lorsqu'elles atteignent une longueur de trois centimètres, les jeunes Fougères sont mises en pot et placées dans les serres à culture générale.

En moins d'un an, elles donnent de superbes frondes dont on peut suivre pas à pas le développement.

C'est grâce à l'obligeance du distingué directeur du Jardin des Plantes de Clermont-Ferrand, M. LAYÉ, que nous devons d'avoir pu faire ces cultures, avec l'aide de M. MAYOT, et mener à bien ce travail sous la haute direction de MM. les professeurs Gaston BONNIER de la Sorbonne, et Paul GROS, de l'Université de Clermont-Ferrand.

CHAPITRE II

SPORES DE POLYPODIACÉES

Les spores de Polypodiacées sont en général arrondies en boule d'un côté et de l'autre limitées par trois faces sensiblement planes, de sorte qu'elles ont à peu près la figure d'une pyramide triangulaire, superposée à un segment sphérique. Pour cette raison, on les appelle parfois spores sphéro-tétraédriques et leur forme s'explique, comme l'a déjà indiqué Kny (1), par la manière dont elles naissent dans le sporange, à savoir par quadri-partition des cellules-mères. Chacune des trois faces accolées à une face semblable de la spore sœur est peu voûtée, la face extérieure, au contraire, est fortement bombée. Lorsque la spore repose sur le côté sphérique, les trois faces ressortent nettement, grâce à trois côtes épaisses qui se réunissent au sommet de la pyramide et qui marquent la place où la spore s'ouvrira lors de la germination.

Les spores des différentes Polypodiacées possèdent une paroi composée de deux couches, désignées généralement par exospore et endospore ou exine et intine, par analogie avec le grain de pollen ; l'exospore, comme son nom l'indique, est la couche superficielle inextensible, tandis que l'endospore est la couche profonde, mince et élastique. Le dédoublement des deux lames s'obtient facilement en traitant les spores par une solution de potasse

(1) Kny : *Die Entwicklung der Parkeriaceen, dargestellt an Ceratopteris thalictroides*. Dresden, 1875.

étendue. On voit la paroi se dédoubler en une lame externe, épaisse, qui se déchire sous la pression de la masse interne. Celle-ci gonfle sous l'action de la potasse et son contenu ne tarde pas à faire hernie au dehors. L'endospore, alors très visible, est incolore, élastique, et gonflé par la masse protoplasmique interne qui tend à se développer. L'exospore est généralement recouverte par une mince pellicule à laquelle on a donné le nom d'épisporé ; elle est, le plus souvent, colorée en brun et sa surface ornée de bandes, pointes, etc..., variables avec les espèces. Toutefois, on ne peut guère se baser sur la forme de ces ornements pour distinguer les différentes sortes de spores, car celles-ci sont assez variables, même pour une espèce donnée.

Nous avons été frappé de ce fait que, si la plupart des spores donnent en germant, comme on l'admet généralement, des prothalles hermaphrodites, bon nombre d'autres, et pour certaines espèces comme *Aspidium falcatum*, *Pteris cretica*, près de la moitié, donnent des prothalles unisexués, le plus généralement mâles, rarement femelles.

Nous nous sommes demandé, s'il ne fallait pas rechercher la cause de cette tendance à la dicécie chez certaines espèces, dans la spore elle-même. Pour cela nous avons examiné attentivement, plus particulièrement au point de vue de la forme et de la grosseur, un grand nombre de ces spores, et nous avons recherché s'il n'était pas possible de les classer en deux catégories, microspores et macrospores, ayant, comme chez les Rhizocarpées, un développement différent. Nous nous sommes entouré de toutes les précautions voulues, ne nous servant que de spores mûres, tombées naturellement des frondes fertiles et recueillies sur du papier blanc. Ces spores ont été fixées sur des lamelles porte-objets avec la glycérine gélatinée Kaiser, et examinées avec un grossissement de 500 diamètres environ.

L'idéal serait d'examiner les spores directement sur le porte-objet, malheureusement la poussière qu'elles constituent est trop fine ; la moindre agitation de l'air, même celle produite par la respiration, les change de place ou les fait disparaître. D'autre part, l'examen dans l'eau ne saurait convenir, car celle-ci les gonfle, et modifie à la fois, rapidement leur forme et leur dimension ; il en est de même de la plupart des solutions aqueuses.

C'est la fixation dans la glycérine gélatinée Kaiser qui nous a permis le meilleur examen.

Les résultats de cette étude ne sont pas très concluants. Nous avons trouvé des spores de différentes dimensions aussi bien chez les Polypodiacées donnant généralement des prothalles hermaphrodites comme *Polistychum Filix-mas*, *Blechnum Spicant*, *Polypodium vulgare* que chez celles qui ont une tendance manifeste pour la diœcie telles que *Aspidium falcatum* et *Pteris cretica*.

D'autre part, ayant remarqué que les grosses spores sont généralement à l'ouverture des sporanges et tombent les premières, les petites touchant plutôt la paroi de l'anneau et se détachant les dernières, nous avons fait des semis séparés, des premières et dernières spores tombées, essayant ainsi de déterminer si les dimensions des spores avaient une influence sur la sexualité du prothalle. Nous ne pouvons assurer que toutes les spores semées aient germé, mais dans les cultures obtenues, après avoir examiné le même nombre de prothalles, nous avons trouvé à peu de chose près, la même proportion de prothalles unisexués et de prothalles hermaphrodites qu'avec les semis ordinaires.

Les dimensions des spores semblent donc n'avoir aucune influence sur la sexualité des prothalles ; il fallait donc renoncer à l'idée de rechercher dans les dimensions des spores d'*Aspidium falcatum* et *Pteris cretica*, la cause première de la sexualité des prothalles donnés par ces spores.

Le protoplasme de ces spores est-il différent ? C'est ce que nous n'avons pu déterminer ; mais il est à prévoir, comme nous le montrerons par la suite, en étudiant le développement du prothalle, qu'il faut surtout rapporter aux conditions extérieures cette tendance à l'unisexualité qu'ont les prothalles de certaines Polypodiacées.

CHAPITRE III

ORGANOGRAPHIE DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES

I. — Premiers phénomènes de la germination des spores de Polypodiacées.

Lorsque les spores saines et mûres de Polypodiacées sont placées dans un milieu chaud, aéré et humide, elles augmentent de volume et ne tardent pas à germer.

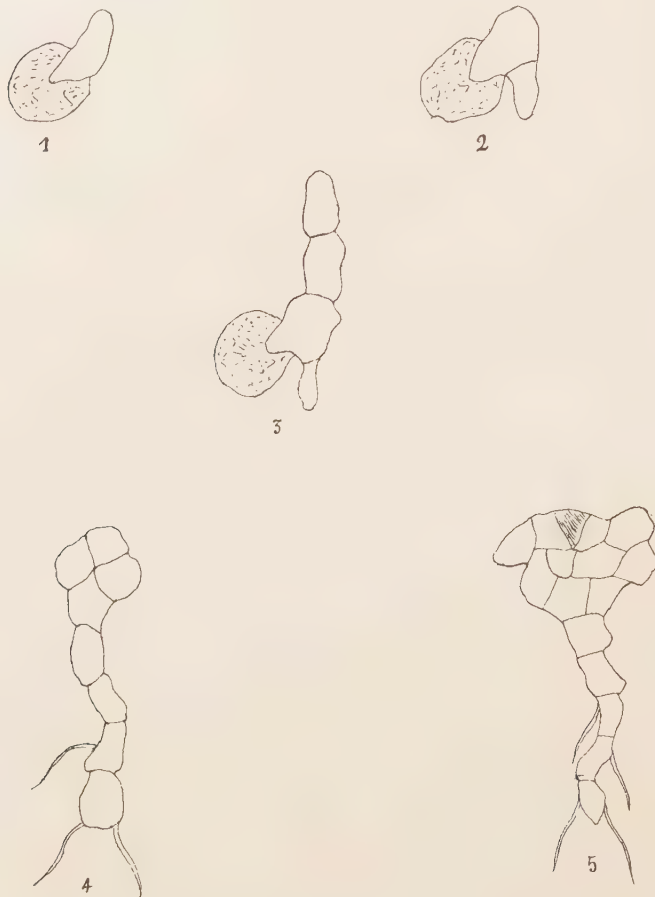
Vers le douzième jour, les trois faces de la spore tétraédrique se détachent à partir du sommet et s'écartent graduellement l'une de l'autre, formant trois valves qui restent unies à la face sphérique de la base. Par l'ouverture ainsi dessinée, s'échappe l'endospore gonflé comme on le voit dans la fig. 1 de la planche ci-après, représentant les premiers stadès de la germination de la spore de *Polystichum Filix-mas*.

Les phénomènes initiaux de la germination sont à peu près identiques chez toutes les Polypodiacées.

Lorsque la saillie formée par l'endospore est assez volumineuse, on voit une division apparaître et donner naissance à deux cellules très différentes : l'une globuleuse présente rapidement quelques grains verdâtres, tandis que l'autre, allongée, conserve l'aspect hyalin et réfringent (fig. 2). La cellule chlorophyllienne est la première cellule prothallienne, la seconde est l'ébauche du premier rhizoïde.

STHAL, qui a étudié les phénomènes du début de la germination des spores, a montré que la lumière influe sur le sens du premier cloisonnement ; d'après lui, la membrane séparatrice de la première

cellule prothallienne et du rhizoïde est perpendiculaire à la direction de la lumière. Or, KNY (1), en comprimant une spore entre deux lames de verre, a vu que le sens de la cloison était sans



Développement du prothalle de *Polystichum Filix-mas*.

relation avec la lumière, mais qu'il était au contraire sous la dépendance du sens de la pression. Nos recherches personnelles, nous permettent de conclure dans le sens de STHAL : la première

(1) Kny: *Ueber den Einfluss von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich theilenden Pflanzenzellen*. (Ber. bot. T. XIV., 1896).

cloison est en général perpendiculaire à la direction de la lumière.

Le tube germinatif, formé par la cellule chlorophyllienne ne tarde pas à se séparer par une cloison transversale en une cellule basilaire qui ne se divise plus ultérieurement, et une cellule apicale qui répète encore plusieurs fois le même mode de division, de manière à former un filament de trois à dix cellules en ligne (fig. 3). A ce moment, la spore dont les réserves nutritives sont épuisées, se détache et, à sa place, se forme souvent, sur la cellule basilaire, un deuxième rhizoïde (fig. 4).

Les nouvelles cellules prothalliennes formées se chargent rapidement de granulations chlorophylliennes, très visibles dans les cultures sur buvard blanc où elles provoquent des taches vertes plus ou moins étendues.

Le premier rhizoïde est bientôt dépassé en longueur par un deuxième poil radiculaire et par les suivants, qui naissent de protubérances se formant sur la deuxième, ou la troisième cellule du filament proembryonnaire. Chacune de ces protubérances se développe bientôt, après avoir été séparée par une cloison, de la cellule correspondante du filament, en un tube de couleur brunâtre beaucoup plus long que large.

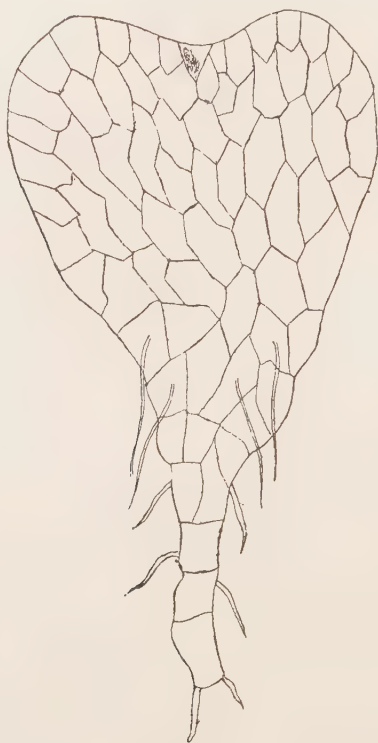
Ces premiers phénomènes de germination se retrouvent presque identiques chez toutes les Polypodiacées ; mais, à partir de ce moment, des différences assez sensibles vont s'établir suivant les espèces.

Avec *Polystichum Filix-mas*, *Aspidium falcatum*, *Ceterach officinarum*, *Cystopteris fragilis*, la cellule génératrice située à l'extrémité du filament proembryonnaire va se cloisonner latéralement à droite et à gauche, par des parois anticlinales faisant avec l'axe du prothalle des angles voisins de 45°. Il s'ensuit que le prothalle s'élargit au sommet, tandis que la cellule génératrice prend la forme d'un coin, dont les parois inférieures sont perpendiculaires l'une à l'autre.

Les cellules néoformées, sont toujours situées dans un seul plan, le prothalle formant un étroit ruban, élargi à son extrémité. Mais, les rhizoïdes en se développant, apportent une plus grande quantité de matière nutritive qui active le cloisonnement de la cellule apicale cunéiforme. Cette cellule apicale, se divise alors latéralement, produisant des segments alternativement à droite et

à gauche; ces segments se partagent eux-mêmes par des cloisons transversales, ce qui élargit la surface prothallienne et forme un plan cellulaire au sommet du filament proembryonnaire (fig. 5).

Un méristème ne tarde pas à se dessiner autour de la cellule cunéiforme et, dès lors, il devient à peu près impossible de déterminer exactement l'ordre de succession des divisions cellulaires.

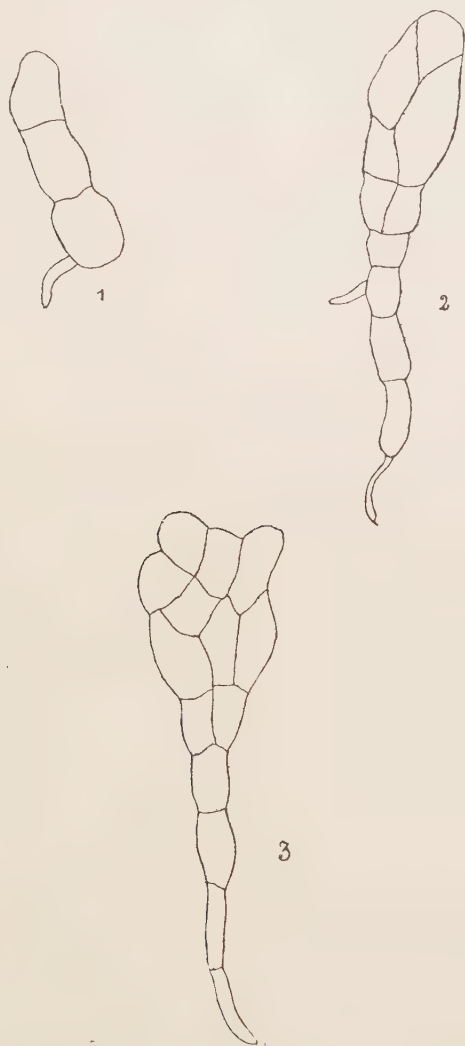


Prothalle de *Polystichum Filix-mas* en voie de développement.

Toujours est-il, qu'en quelques jours, le prothalle prend l'aspect indiqué par la planche ci-dessus. Sa forme en cœur commence à se dessiner, et au fond de l'échancrure se voit la cellule en coin.

Le développement du filament proembryonnaire est un peu différent chez *Pteris cretica*. D'abord la spore se détache très vite de la cellule basilaire, laquelle en général n'émet qu'un seul poil radicaire (fig. 1).

Lorsque le filament atteint la longueur de cinq à huit cellules, les dernières cellules formées se cloisonnent dans le sens longi-



Développement du prothalle de *Pteris cretica*.

tudinal, élargissent celui-ci et lui donnent la forme de spatule (fig. 2). Peu à peu, la cellule terminale génératrice se cloisonne

comme précédemment et prend la forme plus ou moins nette d'un coin comme le montre la fig. 3.

Le développement se continue comme chez *Polystichum Filix-*



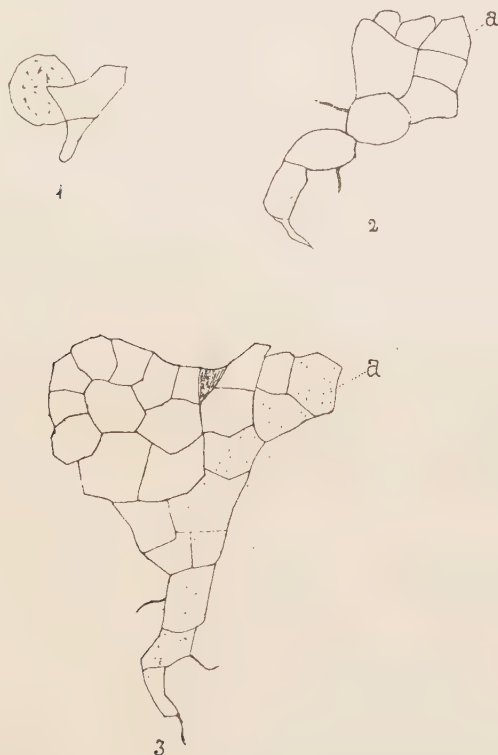
Développement du prothalle de *Pteris aquilina*.

mas, de façon à donner au prothalle de *Pteris cretica* une forme provisoire à peu près identique au précédent.

Le développement de *Pteris aquilina*, représenté par la figure

ci-contre, rappelle au début celui de *Pteris cretica* par le cloisonnement longitudinal des cellules du filament proembryonnaire, mais s'en éloigne ensuite par l'élargissement rapide du sommet, dû à une multiplication intense de la cellule apicale.

En somme, dans tous ces cas, le plan celluleux se forme toujours à l'extrémité du filament proembryonnaire aux dépens de la cellule apicale qui prend très vite l'aspect cunéiforme.



Développement du prothalle de *Scolopendrium officinale*.

La seule différence dans le développement, réside dans la division longitudinale de certaines cellules du filament, division qui a pour but d'élargir celui-ci et de multiplier les rhizoïdes.

La majorité des prothalles de Polypodiacées que nous avons examinés, présentent, dans leur évolution, ces modes de cloisonnement ; quelques-uns, toutefois, s'en écartent légèrement, ser-

vant ainsi de transition entre les premiers prothalles et ceux des Schizéacées où le plan cellulaire est toujours latéral et formé aux dépens d'une cellule marginale.

Ainsi, comme l'avait déjà observé PEDERSEN (1) dans certaines espèces du genre *Aspidium*, le développement du plan cellulaire offre souvent cette anomalie que la cellule du sommet éprouve



Développement du prothalle d'*Asplenium Trichomanes*.

d'abord des divisions répétées du même côté. Dans ce cas, le plan cellulaire, bien que dérivant indirectement de la cellule apicale, occupe toujours une position latérale.

On peut faire des constatations plus sensibles encore sur les proembryons de *Scolopendrium officinale* et *Asplenium Trichomanes*.

Comme le montrent les figures ci-dessus, le filament terminal (en pointillé sur les figures) porte à son extrémité une cellule effilée (a) et le plan cellulaire se développe tout entier au moyen de

(1) Pedersen : *Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Vorkeimes der Polypodiaceen*. Schenk et Luerssen, Mittheilungen aus dem Gesamtgebiete der Botanik. T. II.

cellules filles, provenant des segments du filament situés au-dessous de la cellule apicale.

Le plan cellulaire est donc alors nettement latéral; la cellule cunéiforme, qui se forme plus tard, ne dérive donc pas, comme précédemment, de la cellule apicale, mais bien de cellules marginales comme chez les Schizéacées.

En résumé, on peut dire que les premiers phénomènes de la germination des spores de Polypodiacées, à de rares exceptions près, sont caractérisés par la formation d'un filament proembryonnaire constitué par une file de cellules et le développement d'un plan cellulaire terminal, plan dérivant du cloisonnement de la cellule apicale cunéiforme.

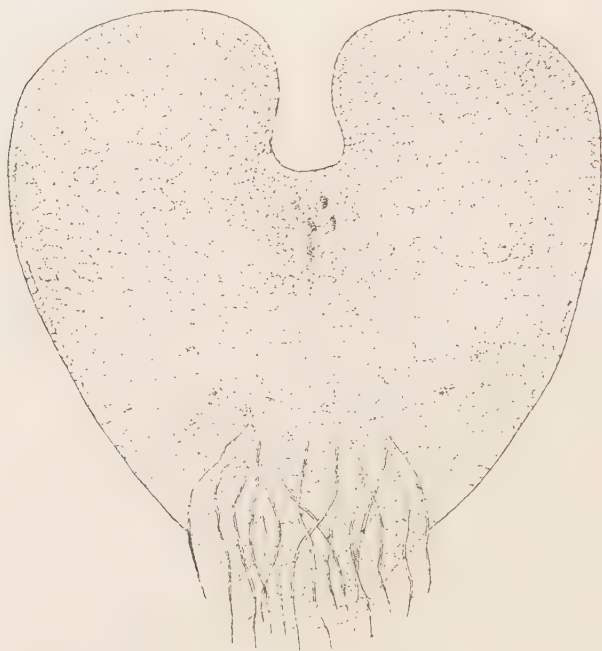
II. — Développement et forme du Prothalle.

Les prothalles hermaphrodites des Polypodiacées ont généralement la forme d'un cœur plus ou moins allongé, à échancrure médiane, au fond de laquelle se trouve la cellule cunéiforme, origine du méristème. Cette forme commence à se dessiner à la fin du premier mois de germination. A ce moment, le prothalle présente le contour d'un triangle irrégulier, reposant par son sommet sur un pied relativement court. Il est constitué par un ensemble de cellules à formes mal définies, petites et serrées sur la ligne médiane, grandes et lâches à la périphérie et vers le pied. Ces dernières cellules sont fixées au sol par d'assez nombreux rhizoïdes qui se sont développés au fur et à mesure que le prothalle s'élargissait.

A ce moment, la cellule cunéiforme, au lieu de continuer son cloisonnement latéral, se divise transversalement; la cellule inférieure, toujours en coin, va former, par divisions successives, un massif cellulaire central sur lequel prendront naissance les archégones, tandis que la cellule supérieure, par une cloison médiane et verticale, va donner les deux cellules-mères de la bande latérale qui entoure normalement les ailes prothalliennes. C'est à partir de ce nouveau cloisonnement de la cellule apicale que commence à se dessiner la forme de cœur, caractéristique des prothalles hermaphrodites de Polypodiacées.

La cellule cunéiforme inférieure continue à se cloisonner comme

primitivement et à détacher latéralement des segments qui, à leur tour, par divisions transversales, ne tardent pas à former un massif cellulaire qui tend à prendre à droite et à gauche une certaine extension. En même temps, sur l'axe du prothalle et des deux côtés, un grand nombre de divisions parallèles au plan du prothalle commence à dessiner une espèce de coussinet, dénommé



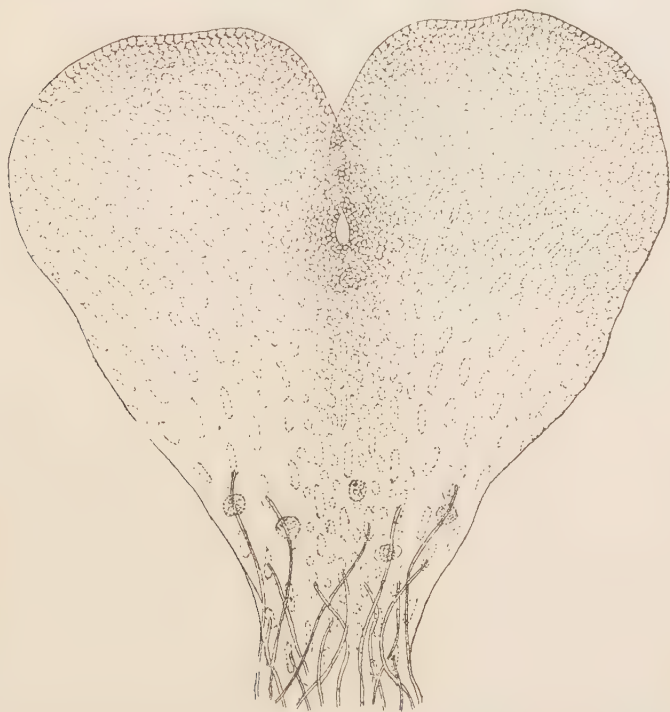
Prothalle de *Polystichum Filix-mas*.

pulvinule par RAUWENHOF. Ce coussinet, formé par plusieurs couches de cellules, s'atténue sur les côtés, et passe insensiblement aux ailes prothalliennes constituées à la périphérie par une couche cellulaire unique.

Comme nous le verrons, son épaisseur augmente au fur et à mesure qu'on se rapproche du méristème, le maximum d'épaisseur correspondant au point où commencent à se dessiner les archégones.

De nombreux rhizoïdes prenant naissance sur les cellules infé-

rieures du coussinet, il en résulte une fixation complète du prothalle sur l'axe et sur le pied. Or, les cellules du méristème, formées par le cloisonnement latéral de la cellule cunéiforme, tendent à se développer et à augmenter de volume, elles ne tardent pas à s'allonger de chaque côté du pulvinule, de manière à former deux ailes plus ou moins redressées, qui donnent au prothalle l'aspect d'un cœur à échancrure médiane.



Prothalle de *Polystichum Oreopteris*.

En même temps, les deux cellules formées après division transversale de la cellule apicale, se cloisonnent verticalement de manière à former autour des ailes prothalliennes, une bande constituée par un ruban de cellules en palissades. Lorsque l'activité des cellules génératrices de la bande périphérique est trop grande, celle-ci forme des dépressions sur les côtés du cœur, et lui donne une forme lobée irrégulière comme cela se voit dans les

prothalles de *Blechnum Spicant* et d'*Asplenium Ruta-muraria*. Les cellules prothalliennes formées aux dépens du méristème n'émettent que très rarement des rhizoïdes, de sorte que la croissance du prothalle est forcément limitée.

A ce moment, les cellules-mères des anthéridies et des archéogones sont déjà différenciées ; l'accroissement végétatif est terminé avec l'aspect nettement cordiforme du prothalle.



Prothalle de *Blechnum Spicant*.

Mais il peut arriver que, par suite d'un cloisonnement anormal, la cellule apicale cunéiforme conserve son sommet par en haut ; dans ce cas, elle donne naissance à un méristème qui, n'étant plus gêné dans son développement, forme une languette prothallienne, se détachant de l'échancrure du cœur. On trouve cette anomalie chez de nombreux prothalles, principalement chez ceux de *Polystichum cristatum*, de *Pteris cretica* et d'*Aspidium falcatum*.

Dans ce cas, fait remarquable, le prothalle ne montre qu'un coussinet rudimentaire et est généralement unisexué. Les anthéridies qui, normalement, se forment avant les archéogones, existent presque toujours ; elles paraissent toutefois être en moins grand

nombre que sur les prothalles hermaphrodites de même espèce. Il semble donc que cette languette prothallienne ait la valeur morphologique du massif cellulaire central, dans lequel prennent naissance les archégones.

Lorsque, comme il arrive parfois, la cellule apicale cunéiforme normale ne se divise pas transversalement, elle continue à se



Prothalle mâle de *Polystichum cristatum*.

cloisonner, comme au début, donnant des segments à droite et à gauche ; la forme prothallienne primitive est alors à peine modifiée. Ces prothalles conservent l'aspect triangulaire et restent généralement unisexués ; ils présentent de nombreuses anthéridies entre les rhizoïdes de la base avec un coussinet mal formé et dépourvu d'archégones.

La forme des prothalles mâles est donc essentiellement variable ; tantôt ils présentent un lobe médian, par suite d'un trouble local dans le cloisonnement de la cellule apicale, tantôt ils sont triangulaires comme dans le cas précédent, tantôt enfin ils sont ramifiés,

comme nous le verrons plus loin, et présentent de nombreux lobes latéraux formés aux dépens des cellules marginales.

En résumé, la sexualité du prothalle est le plus souvent fonction de sa forme, laquelle semble être sous la dépendance du mode de division de la cellule apicale cunéiforme.

Remarquons que cette relation entre la forme et la sexualité des

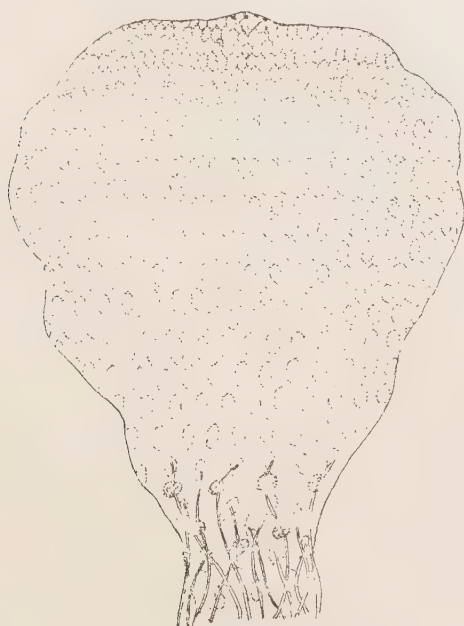


Prothalle mâle d'*Aspidium falcatum*.

prothalles de Polypodiacées existe également chez les prothalles d'*Equisetum*.

Les prothalles mâles d'*Equisetum* sont, comme ceux des Polypodiacées, le plus souvent ramifiés; les prothalles femelles, au contraire, prennent l'aspect d'un cœur à contour plus ou moins lobulé. Dans les deux cas, l'existence d'un coussinet médian bien développé est la condition essentielle de la présence d'archégones sur le prothalle. Ainsi, chez *Equisetum arvense*, les prothalles femelles ont la forme d'une feuille de chicorée pliée en deux, la

partie médiane étant épaissie et portant les archégones. De même, chez les prothalles de Polypodiacées, la forme en cœur se retrouve toujours lorsque le prothalle est hermaphrodite, le coussinet ou pulvinule étant parfaitement développé. Les prothalles mâles, au contraire, ont la forme d'une lame à contour irrégulier et à peine épaissie vers la partie médiane dépourvue d'archégones. Mais, à l'inverse de ce qui se passe chez les Prêles, où



Prothalle mâle de *Pteris aquilina*

la diœcie est manifeste, il semble que chez les prothalles de Polypodiacées, l'hermaphroditisme soit plutôt la règle. Lorsque le prothalle reste unisexué, il faut en déduire que sous l'influence des conditions extérieures il y a eu avortement des organes mâles ou femelles. Les organes mâles se développant les premiers, et en plus grand nombre que les organes femelles qui demandent pour se former un coussinet bien rembourré, il est facile de prévoir que l'avortement des archégones sera plus fréquent que celui des anthéridies, ce qui permet de comprendre pourquoi les prothalles

unisexués sont en grande majorité mâles, les prothalles femelles étant plutôt exceptionnels.

III. — Formation des anthéridies et des archégones

La formation des anthéridies sur les prothalles de Polypodiacées est bien connue depuis les travaux de KNY (1). On sait, en effet, que l'anthéridie a son origine dans la voussure d'une cellule de



Prothalle de *Pteris Tremula*.

l'assise superficielle de la face inférieure du prothalle. La cause de cette voussure, selon nous, paraît se trouver dans la poussée exercée par le développement du massif cellulaire intra-prothallien. Ce qui semble le prouver, c'est que les anthéridies dans *Aspidium falcatum*, commencent à se former, alors que la pression dans les cellules de base est maximum, c'est-à-dire bien avant que le prothalle ait acquis sa forme définitive. D'autre part, la place occupée par ces anthéridies distribuées irrégulièrement au milieu des rhizoïdes ou à la base du prothalle, correspond assez aux

(1) Kny : *Ueber den Bau und die Entwicklung des Farn-antheridiums* (Monatsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Mai 1896. Berlin.)

voissures déterminées par la pression réciproque des cellules. Jamais d'anthéridies sur les cellules à rhizoïdes, lesquelles fixées et turgescents compriment les cellules voisines et provoquent la formation de hernies; jamais non plus d'anthéridies côte à côte, car la hernie cellulaire formée a permis aux cellules adjacentes de se développer librement. Remarquons enfin que les anthéridies ne se trouvent jamais sur les cellules marginales des prothalles hermaphrodites de Polypodiacées, ainsi que cela se voit dans le genre *Hymenophyllum*. Enfin, comme nous le montrerons plus tard, le nombre des anthéridies est d'autant plus grand que le pied du prothalle est mieux fixé et le méristème central plus développé. Ainsi, dans le prothalle de *Pteris Tremula* où le nombre des archégonas varie entre six et dix-huit et où, par suite, le massif cellulaire central est très développé, le nombre des anthéridies se multiplie et celles-ci sont comprimées à ce point, que la hernie est complète, et qu'elles sont en quelque sorte pédicellées.

En définitive, si le nombre des anthéridies sur *Pteris Tremula*, comme on peut le constater, est généralement en relation avec le nombre des archégonas, il semble qu'il y a surtout là, un rapport de cause à effet. La plupart des cellules qui ont fait hernie se transforment en anthéridies; bon nombre cependant se pédiculisent, finissent par se détacher du prothalle et se désagrègent. Les autres, après la formation d'un pied généralement très court, isolent la calotte en demi sphère, laquelle par cloisonnement ne tarde pas à donner deux cellules latérales en tore, entourant l'antheridie, et un couvercle à la partie supérieure. La cellule intérieure est la cellule-mère des anthérozoïdes. Leur formation a été surtout bien étudiée par BELAIEFF (1) et tout dernièrement par GUIGNARD (2); nous n'y reviendrons donc pas. Qu'il nous suffise d'ajouter que cette formation n'est pas simultanée dans toutes les anthéridies et que, sur un même prothalle, on trouve, jusqu'au développement complet, des archégonas et des anthéridies à différents stades de maturité. Cela s'explique si l'on estime que la formation des anthéridies est influencée par la pression mutuelle des

(1) Belaïeff: *Ueber den Nebenkern in spermatogenen Zellen und die Spermatogenese bei den Farnkräutern* (Ber. bot. 1897).

(2) Guignard: *Développement et constitution des anthérozoïdes*. (Rev. gen. bot. 1889).

cellules les unes sur les autres. On remarque, en effet, qu'elles prennent d'abord naissance dans les cellules de la base où la pression est maximum et les rhizoïdes nombreux ; peu à peu elles apparaissent un peu plus haut, au moment du développement du méristème central, mais restent toujours néanmoins localisées dans la moitié inférieure du prothalle, seule région où se trouvent les rhizoïdes. Sur le coussinet cellulaire, on ne trouve que très rarement des anthéridies.

La déhiscence de ces anthéridies est facilitée dans certains cas par la turgescence des cellules voisines, qui appuyant sur la base de l'anthéridie, la compriment, et provoquent son ouverture. Il suffit, en effet, de placer un prothalle cordiforme, portant des organes mâles, sur un milieu de basse tension superficielle, c'est-à-dire à absorption facile, pour voir s'ouvrir bon nombre d'anthéridies, bien qu'assez éloignées de leur maturité.

Remarquons d'ailleurs que, contrairement à ce qui se passe chez les prothalles d'*Hyménophyllées*, *Osmondacées*, *Cyathéacées*, et *Gleichéniacées*, où la cellule terminale de l'anthéridie se détache régulièrement, chez les prothalles de *Polypodiacées* elle se déchire en tous sens, laissant une ouverture à bords déchiquetés, et, fait à noter, les bords de l'anthéridie sont d'autant plus irréguliers que celle-ci est plus jeune.

La formation des archéogones sur les prothalles de *Polypodiacées* est également bien connue. On sait que ces archéogones se forment au-dessous de l'échancrure du cœur sur le coussinet médian, c'est-à-dire dans la région la plus épaisse du prothalle. L'apparition des archéogones est toujours postérieure à celle des anthéridies. Comme les anthéridies, les archéogones ont leur origine dans une cellule superficielle de la face inférieure du prothalle, laquelle, sous l'influence de la pression périphérique, se divise en deux par une cloison parallèle à la surface prothallienne ; la cellule profonde néoformée se divise de la même manière formant trois cellules superposées. La cellule moyenne donne l'oosphère et la cellule du canal, tandis que la cellule la plus superficielle formera, après division, le col de l'archégone.

Lorsqu'il y a un grand nombre d'archéogones, comme cela se voit dans *Pteris Tremula*, les premières se forment assez loin de la cellule génératrice du méristème, tandis que les dernières se dé-

veloppent toujours au voisinage de l'échancrure du cœur. Ainsi, tandis que les premières anthéridies apparaissent à la base, les premières archégonies, au contraire, se montrent vers le milieu du prothalle.

IV. — Développement normal de l'œuf.

La fécondation se produit chez les prothalles de Polypodiacées du deuxième au troisième mois. Elle ne demande pas beaucoup d'eau; la plupart de ces prothalles étant étalés à la surface du sol conservent sous leurs ailes assez d'humidité pour assurer la mobilité des anthérozoïdes. D'ailleurs, les oosphères gardent, pendant plusieurs mois, le pouvoir d'être fécondées, contrairement à ce qui se passe chez les Phanérogames. Dans un même semis nous avons eu des fructifications à trois mois d'intervalle, ce qui suppose que l'oosphère a pu conserver sa maturité tout ce temps sans subir de dégénérescence. Chez les Phanérogames, au contraire, dès que l'ovaire est assez développé, si les ovules ne sont pas fécondés, le pistil se flétrit et s'atrophie en quelques jours. C'est donc une précaution prise par la nature pour assurer la fructification des prothalles de Polypodiacées, la fécondation étant plus aléatoire que chez les Phanérogames.

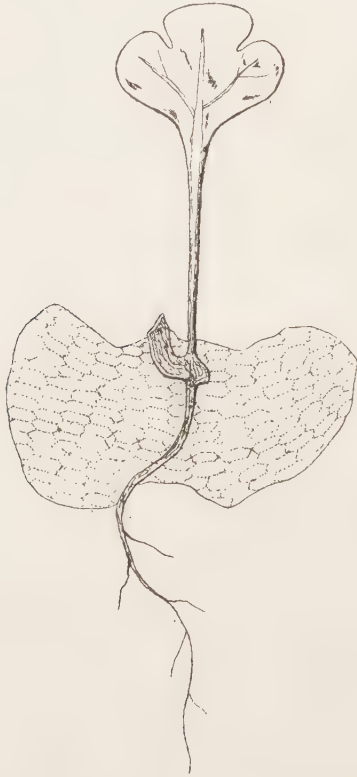
Nous n'avons pas à étudier les phénomènes intimes de la fécondation, bien connus depuis les travaux de KNY, STRASBUGER et GUIGNARD. Il suffit de rappeler que l'œuf, une fois formé, ne tarde pas à grossir et à fermer le col des archégonies voisines, pour éviter une nouvelle fécondation qui peut néanmoins se produire quelquefois, comme nous le verrons plus loin.

Toutefois, cet œuf ne commence guère à se cloisonner avant la huitaine qui suit la fécondation. Ce cloisonnement a lieu d'après ce que nous avons pu observer, suivant des obliques à 45°, de sorte que la cellule qui doit donner la fronde est à la partie supérieure du prothalle et la cellule de la racine, à la base.

Lorsque les deux ailes du prothalle sont égales, la cellule du pied est indifféremment à droite ou à gauche; si, au contraire, ces ailes sont inégales, elle se trouve, en général, du côté de l'aile la plus large, la cellule de la tige étant à l'opposé.

Ce mode de cloisonnement explique que, dans la plupart des

cas, la jeune fronde ne se développe pas comme on l'indique généralement, en contournant les bords du prothalle, mais sort directement par l'échancrure du cœur. Lorsque l'œuf se cloisonne, il a grossi et presque atteint l'épaisseur du coussinet médian qui le porte, de sorte que la fronde peut se développer librement à la



Prothalle de *Polystichum Filix-mas* portant une jeune plante feuillée.

lumière, sans avoir besoin de croître pendant un certain temps à l'obscurité sous la lame prothallienne.

La fronde se développe rapidement ; elle ne tarde pas à s'élargir au sommet et à se trifurquer. En moins de quinze jours, elle a atteint un demi centimètre de longueur ; mais le développement de la fronde est encore beaucoup moins rapide que celui de la racine. Celle-ci se termine par une coiffe peu épaisse, recouvrant

une cellule génératrice en voie de cloisonnement. Les jeunes cellules nouvellement formées dessinent un gland au-dessous de la coiffe et ne tardent pas à se différencier en assise pilifère, écorce et cylindre central. Après une semaine, la racine a jusqu'à un centimètre de longueur et ses vaisseaux scalariformes différenciés. Cette croissance rapide de la racine a pour but évidemment d'assurer le plus tôt possible la nutrition de la jeune fronde au moyen du milieu nutritif, les réserves prothalliennes pouvant disparaître sous des influences étrangères. Nous avons essayé de déterminer le moment précis où la racine peut suffire à elle seule au développement de la jeune plante, en coupant les ailes prothalliennes à des époques différentes. Nous avons constaté que pour *Polystichum Oreopteris Polypodium vulgare*, *Blechnum Spicant*, deux semaines sont nécessaires; la jeune plante privée plus tôt de son prothalle ne tarde pas à se flétrir et à mourir; pour *Pteris cretica* et *Aspidium falcatum*, ce temps est même un peu plus long. Peut-être la cause en revient moins à la racine, qui est à ce moment assez développée pour absorber, qu'à la jeune fronde qui n'a pas encore assez de chlorophylle. Et ce qui semble le prouver, c'est que la plantule dépourvue de son prothalle et placée dans un milieu sucré, continue à se développer. Nous devons toutefois faire observer que ce développement est beaucoup plus lent; ce qui tend à montrer que les réserves prothalliennes sont, sinon indispensables, du moins fort nécessaires au premier développement de la jeune Fougère. Celle-ci croissant normalement, ne tarde pas à ramifier sa fronde; la racine s'allonge et se couvre de poils absorbants et, vers la fin du quatrième mois, le prothalle ayant rempli sa fonction disparaît complètement.

V. — Développement anormal de l'œuf.

Le développement de l'œuf indiqué plus haut est le développement normal. Toutefois, dans bon nombre de cas, surtout chez *Pteris aquilina*, *Polystichum cristatum* et *Asplenium Trichomanes*, la cellule d'origine de la fronde se partage dès le début en deux, donnant naissance à deux frondes, comme le montre la figure ci-après, représentant le développement d'un œuf de *Pteris*

aquilina. L'une de ces frondes, plus directement en contact avec le pied, croît davantage, l'autre reste en général moins développée; la racine étant unique, les réserves prothalliennes disparaissent

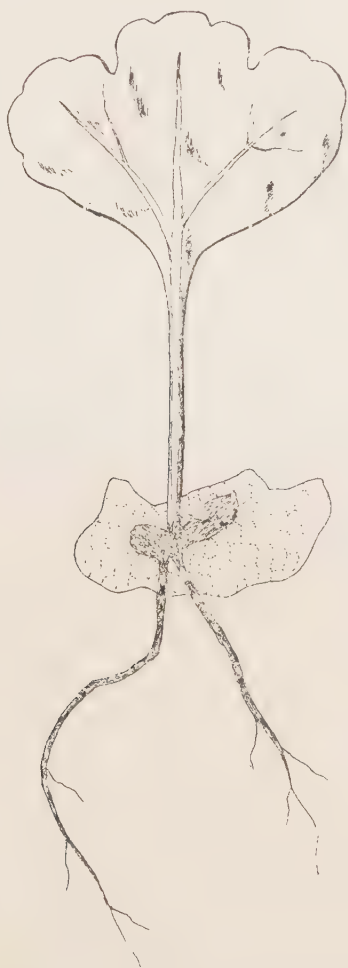


Prothalle de *Pteris aquilina* portant une jeune Fougère à deux frondes pour une seule racine.

rapidement. Si l'on vient à sectionner les ailes du prothalle, même après l'apparition de la racine, les deux frondes ne tardent pas à se flétrir. C'est là un développement anormal de l'œuf.

D'autres fois, c'est la cellule inférieure qui se cloisonne, donnant ainsi deux racines pour une seule fronde, comme cela se trouve de même fréquemment chez *Pteris aquilina*. Dans ce cas le développement de la fronde est rapide, mais la croissance en longueur de chaque racine est retardée. Par contre, on peut sectionner de

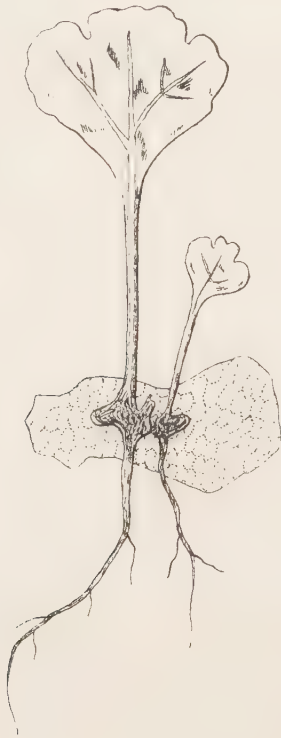
bonne heure les ailes prothalliennes sans influencer le développement de la jeune fronde.



Prothalle de *Pteris aquilina* portant une jeune Fougère
à deux racines pour une seule fronde.

Enfin, une troisième anomalie peut se produire : deux archéogones reçoivent en même temps des anthérozoïdes ; il y a formation de deux œufs. Cette polyembryonie est anormale. Le prothalle n'a

de réserves que pour assurer le développement d'une plantule ; aussi la croissance des frondes sera irrégulière, les deux œufs se gênant dans leur cloisonnement mutuel. Cette particularité déjà signalée par GEBEL dans le genre *Wittaria* a été retrouvée depuis par RAUWENHOFF (1) chez les *Gleicheniacées* ; elle est assez



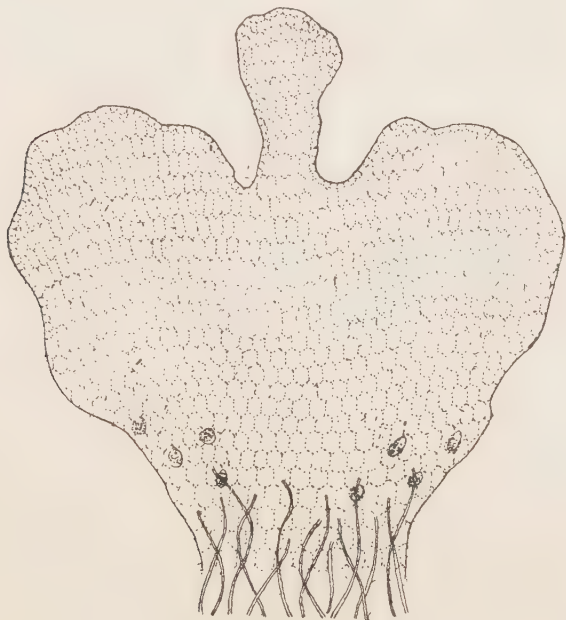
Polyembryonie chez un prothalle de *Polystichum Filix-mas*.

fréquente chez les Polypodiacées, principalement dans le genre *Polystichum* où les archégones, peu nombreuses et assez écartées, peuvent avoir les oosphères fécondées à plusieurs jours d'intervalle.

Nous n'avons pas observé ce phénomène dans les espèces telles que *Pteris Tremula* où les archégones sont serrées les unes con-

(1) Rauwenhoff : *Génération sexuée des Gleicheniacées*. (Arch. néer. T. XXIV.)

tre les autres, car dans ce cas dès qu'une oosphère est fécondée, l'œuf formé grossit et comprime l'ouverture des autres archégonés, pour en fermer le col.



Prothalle mâle de *Pteris cretica*.

VI. — Prothalles unisexués.

Dans certains cas, comme nous l'avons indiqué, lors de la formation du prothalle, le cloisonnement de la cellule génératrice se fait de telle manière qu'elle donne naissance à une ou plusieurs languettes prothalliennes, qui se détachent de l'échancrure du cœur ; le coussinet médian dans ce cas se développe mal et porte très rarement des archégonés. Les prothalles ainsi formés ont une forme irrégulière ; le cœur est en général assez mal dessiné, comme le montrent les figures des prothalles mâles de *Polystichum cristatum*, *Aspidium falcatum* et *Pteris cretica* représentées plus haut.

On doit remarquer que la formation de ces prothalles mâles est relativement fréquente, ce qui indique, chez un bon nombre de

prothalles de Polypodiacées, une tendance très nette à l'unisexualité. Nous l'avons rencontré dans les cultures normales chez *Polystichum Filix-mas*, *Pteris cretica*, *Pteris argyræa*, *Blechnum Spicant*, *Athyrium Filix-femina* et dans les cultures sous verres colorés, avec presque toutes les espèces.

Les prothalles unisexués mâles peuvent naturellement féconder les prothalles femelles ou hermaphrodites de même espèce, mais cette fécondation est assez rare, car elle demande beaucoup d'humidité à cause de la distance à parcourir par les anthérozoïdes.

Ajoutons que, d'après nos recherches, les prothalles femelles sont exceptionnels dans les cultures normales. Malgré de nombreux examens de prothalles, nous n'avons pu en trouver que quelques cas chez *Aspidium falcatum* et *Pteris cretica*. KNY décrit de tels prothalles comme assez communs; peut-être l'avortement des anthéridies dépend-il de conditions que nous n'avons pas réalisées dans nos cultures ?

Il faut ajouter que dans quelques spécimens, où le prothalle ne montrait que des archégones, il nous a semblé voir des vides intercellulaires, indice probable d'anthéridies disparues. De sorte que, d'un examen rapide, on peut conclure avoir à faire à un prothalle femelle, quand on a sous les yeux un prothalle primitivement hermaphrodite.

Ainsi, lorsque comme dans *Pteris Tremula*, les anthéridies sont pédicellées, elles tombent sur le sol au moment de la maturité et donnent au prothalle examiné à ce moment l'apparence femelle, quand en réalité il est hermaphrodite.

En résumé, si l'on ne peut nier l'existence des prothalles femelles, il est toutefois certain qu'ils sont beaucoup plus rares que les prothalles mâles.

Le phénomène inverse semble se produire pour *Equisetum arvense* qui donne, d'après DUVAL-JOUVE (1), de nombreux prothalles femelles et très peu de prothalles mâles, ceux-ci présentant souvent des archégones vers la base de leurs rameaux.

(1) Duval-Jouve : *Loc. cit.*

VII. — Prothalles stériles.

Les prothalles stériles, au contraire, sont assez communs chez *Pteris cretica* et *Polystichum Oreopteris*. Lorsque les prothalles sont placés dans des conditions de milieu très favorables, ils croissent rapidement de manière à atteindre un développement



Prothalle stérile de *Pteris cretica*.

considérable. Les rhizoïdes constituent une épaisse touffe de poils à la face inférieure et les ailes, très larges, ont leur contour lobulé.

Ces prothalles forment une lame qui, sous l'influence de la lumière, se relève légèrement pour prendre l'aspect d'un entonnoir à fond très incliné. Nulle trace d'archégones ou d'anthéridies n'apparaît sur ces prothalles qui sont réellement stériles ; ils peuvent rester dans cet état de longs mois, sans éprouver de changement notable.

VIII. — Apogamie.

Les prothalles des espèces *Aspidium falcatum*, *Pteris cretica* et *Polystichum Filix-mas*, ont été les premiers décrits comme présentant les phénomènes d'apogamie signalés par DE BARRY. Nos recherches nous ont montré que si l'apogamie se trouve moins fréquemment chez *Pteris aquilina*, *Asplenium Trichomanes*, *Polypodium Phegopteris* et *Polystichum Oreopteris*,



Apogamie chez un prothalle mâle de *Polystichum cristatum*.

elle existe cependant réellement. On voit, dans ce cas, au voisinage de l'échancrure du cœur et sur la face inférieure du prothalle, un certain nombre de cellules proéminer, se cloisonner activement et former un mamelon qui ne tarde pas à bourgeonner et à donner une racine.

Ainsi se constitue sur le prothalle une plantule adventive, semblable à celle qui provient du développement normal de l'œuf.

C'est un phénomène de multiplication qui peut tout aussi bien se produire sur les prothalles mâles que sur les prothalles hermaphrodites dont l'oosphère n'a pas été fécondée.



Apogamie chez un prothalle d'*Aspidium falcatum*.

Les figures ci-dessus représentent deux cas d'apogamie, observés l'un, sur un prothalle mâle de *Polystichum cristatum*, reconnaissable à sa languette médiane, l'autre sur un prothalle d'*Aspidium falcatum*.

En somme, la multiplication par apogamie est beaucoup moins rare que ne le croyait DE BARRY. Depuis, GEBEL l'a trouvée sur de nombreuses Fougères et, en particulier, sur *Anogramme chaerophylla*, SADEBECK sur *Todea africana*, LEITGEB sur *Osmunda regalis* ; C. HEIM (1) l'a fort bien observée et décrite sur *Doodya caudata*.

Il y a dans tous ces cas un raccourcissement du développement par la suppression de la reproduction sexuée.

(1) C. Heim : *Untersuchungen über Farn-prothallien*. Flora, 1896.

IX. — Bulbilles.

Il n'en est pas de même de la présence des bulbilles signalés par GEBEL (1) sur les prothalles de *Wittaria*. Ces bulbilles sont situés sur des cellules marginales allongées appelées stérigmes ; à la maturité, ils se détachent de leur support et peuvent donner naissance à des prothalles hermaphrodites.

Dans *Gymnogramme leptophylla*, au contraire, le prothalle très ramifié allonge en un certain nombre de cônes ses coussinets à archégones, les enfonce dans le sol et les remplit de matière nutritive, de manière à former des bulbilles. Peu à peu, le prothalle se dissocie, isole quelques-unes des branches adventives qui peuvent se développer et donner de nouveaux prothalles. Les bulbilles pourront germer l'année suivante et donner également des prothalles semblables aux précédents. On a ainsi un exemple de l'ougère vivace par son prothalle.

Nous avons remarqué la présence de ces bulbilles sur certains prothalles ; mais, à l'examen histologique, nous n'avons pu les différencier du pulvinule, de sorte que nous nous sommes demandé s'il ne fallait pas les considérer comme des nodosités du coussinet médian, enfoncées dans le sol et passées à l'état de vie ralentie.

On peut d'ailleurs les faire naître artificiellement. On sait, en effet, combien sont vivaces les cellules prothalliennes, puisque, flétries et desséchées, elles peuvent, même après plusieurs mois, reprendre leur développement, lorsqu'on les place sur milieu nutritif approprié.

M. Marcel GROULT a constaté, comme nous, qu'un prothalle, germé sur l'eau, peut rester près d'un an à cet état de vie ralentie, voisin de la mort, sans pour cela perdre la faculté de continuer son développement, si les conditions extérieures deviennent meilleures.

En sectionnant les ailes des prothalles de *Polysticum Oreopteris*, *Pteris argyræa*, chez lesquels, le bourrelet médian est très développé, et divisant ensuite, transversalement ce bourrelet en trois parties que l'on enfonce légèrement par pression dans le sol, on voit ces morceaux de bourrelet se dessécher, prendre la

(1) Gebel : *Loc. cit.* p. 6.

forme sphérique et passer à l'état de vie ralentie, pendant un temps très variable suivant la nature du milieu. Puis, si l'on a eu soin de maintenir le sol humide, à un moment donné, ces morceaux de prothalle se développent et donnent naissance à de nouveaux prothalles dont la conformation est identique aux premiers. En comparant ces petites masses cellulaires obtenues par section du pulvinule, aux nodosités formées naturellement sur le prothalle, on les trouve identiques au point de vue histologique ; il semble donc que l'on pourrait considérer ces nodosités comme des boutures naturelles destinées à la multiplication du prothalle.

Toutefois, bien que notre examen ait porté sur de nombreuses Fougères en voie de développement, nous n'avons pu observer, ni obtenir la transformation de l'extrémité des racines de jeunes frondes en bourgeons, comme M. LACHMANN l'a remarqué dans une Polypodiacee exotique, *Anisogonium seramporensse*, et M. ROSTOWZEW (1) avec *Asplenium esculentum*. Cependant d'après ces auteurs, cette transformation, a surtout lieu pendant les premiers développements de la racine.

Notons que GÆBEL (2) a également observé cette formation de bourgeons sur les racines, dans son voyage d'études en Amérique du Sud, chez *Hecistopteris pumila*. C'est une petite Fougère croissant sur l'écorce des arbres dans les forêts humides et marécageuses de la Guyanne. Cette Fougère a un rhizome qui émet de nombreuses racines filamenteuses, rampantes, dont certaines portent des bourgeons, de sorte que *Hecistopteris pumila* peut se multiplier non seulement par son prothalle, mais encore par le bourgeonnement de ses racines.

X. — Prothalles adventifs.

Le plus souvent, les prothalles, d'ailleurs normalement sexués, se ramifient en divers points ; les branches en forme de spatules se détachent plus tard à leur étroite insertion et deviennent autant de prothalles secondaires indépendants qui acquièrent des organes sexués et se comportent comme les prothalles originaux.

(1) Rostowzew : *Beiträge zur Kenntnis der Gefässkryptogamen*. Flora, 1890.

(2) Gæbel : *Loc. cit.* p. 6.

Cette multiplication des prothalles par marcottage naturel se rencontre normalement dans la plupart des espèces d'Aspléniées (Genres : *Cystopteris*, *Athyrium*, *Asplenium*, *Scolopendrium*, *Blechnum*), où le prothalle, naturellement découpé, sépare rapidement les lobes les plus développés ; mais accessoirement les prothalles adventifs se rencontrent aussi dans presque toutes les espèces de Polypodiacées lorsque le prothalle dépérit.

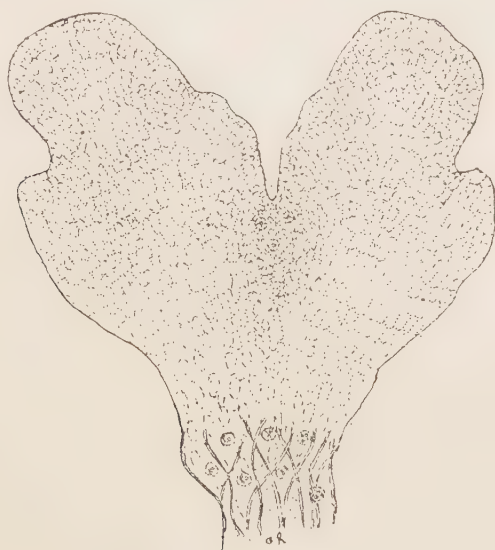


Prothalle de *Cystopteris fragilis*.

Le dépérissement commence généralement par la base et s'étend d'une cellule à l'autre, du centre à la circonférence. Or, à ce moment, certaines cellules marginales du prothalle, cellules vertes et encore vivantes, donnent naissance à quantité de jeunes pousses ou prothalles adventifs des formes les plus bizarres, les uns filamenteux simples ou ramifiés, d'autres claviformes, d'autres enfin prenant rapidement l'aspect d'un cœur qui montre au fond de l'échancrure une cellule nettement cunéiforme.

A la face inférieure de ces prothalles adventifs, prennent naissance de nombreux rhizoïdes de la forme normale.

Lorsque ces prothalles sont ramifiés, il n'est pas rare de voir les filaments se terminer par des anthéridies. Dans les autres cas, le prothalle devient rapidement cordiforme, présentant à la fois des organes mâles et des organes femelles; il faut toutefois remarquer que la sexualité des prothalles adventifs, nés d'un même



Prothalle de *Scolopendrium officinale*.

prothalle, peut varier avec leur forme ; tandis que les uns nettement cordiformes sont hermaphrodites, d'autres, très voisins, sont irréguliers ou filamenteux et unisexués.

Il est à noter qu'avec *Pteris cretica*, les prothalles adventifs ne présentent jamais d'archégones ; ces prothalles ne donnent naissance à de jeunes Fougères que par apogamie.

On peut provoquer artificiellement la formation de prothalles adventifs en lésant la base des prothalles pour produire leur dépérissement. On peut également sectionner incomplètement les ailes prothalliennes et les diviser en lobes artificiels semblables à ceux que l'on trouve chez les Aspléniées ; ces lobes émettent bientôt des rhizoïdes à leur face inférieure et se séparent rapide-

ment du prothalle nourricier. L'une des cellules marginales devient génératrice et accroit le petit prothalle comme le fait normalement la cellule apicale cunéiforme. Bien mieux, si l'on coupe les ailes prothalliennes d'*Aspidium falcatum* en morceaux, et qu'on place ces morceaux sur la terre de bruyère humide, on ne tarde pas à en voir un certain nombre se développer et donner naissance, en quelques mois, à de nouveaux prothalles. Il en résulte que chaque cellule prothallienne possède en elle la capacité latente de reproduire, dans certaines conditions, l'organisme entier. C'est peut-être ainsi qu'il faut comprendre la multiplication par propagules signalée par Cramer (1) sur *Aspidium falcatum*. Jamais nous n'avons trouvé de propagules sur ce prothalle, si par propagules on entend des organes différenciés comme chez les Hépatiques. Au contraire, à la périphérie, se détachent souvent de légers amas cellulaires qui, au bout d'un certain temps de vie latente, peuvent se développer ; mais nous considérons ces amas plutôt comme des prothalles adventifs en miniature que comme des propagules.

En résumé, la plupart des prothalles de Polypodiacées ne portent pas seulement des organes reproducteurs mâles et femelles ; ils constituent dans la vie de la Fougère une forme propre, forme de jeunesse, susceptible d'être modifiée à un haut degré par les circonstances extérieures et pouvant dans presque tous les cas, par une multiplication variée, assurer leur fonction, c'est-à-dire donner naissance à une jeune plante. C'est là un des exemples frappants des moyens multiples employés par la nature pour assurer, malgré des conditions défavorables, la reproduction chez des organes aussi frères, que les prothalles de Polypodiacées.

(1) Cramer : *Ueber die geschlechtslose Vermehrung des Farn-Prothallium namentlich durch Gemmen resp. Conidien.* (Denksch. der Schweiz. Naturforschenden Gesellschaft, 1880.)

CHAPITRE IV

INFLUENCE DES CONDITIONS EXTÉRIEURES SUR LE DÉVELOPPEMENT ET LA SEXUALITÉ DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES.

I

D'après nos recherches sur les prothalles de Polypodiacées indigènes, la sexualité de ces prothalles dépend en grande partie de leur forme, laquelle est sous la dépendance de leur mode de développement.

Il est en effet à remarquer que les prothalles hermaphrodites de Polypodiacées sont tous réniformes ou cordiformes, tandis que les prothalles unisexués, généralement mâles, sans présenter souvent, d'après nous, l'aspect ramifié décrit par Kny (1), ont toujours une forme irrégulière qui ne rappelle en rien la forme type.

Cette modification d'aspect, qui entraîne avec elle une différence de sexualité, provient, d'après nos recherches, du mode de cloisonnement de la cellule génératrice prothallienne.

On sait que la plupart des prothalles de Polypodiacées ont, dès le début, l'aspect filiforme, puis s'élargissent en spatule, par suite des cloisonnements tangentiels de la cellule terminale. Lorsque la lame prothallienne présente une surface de un à deux millimètres carré, la cellule terminale, au lieu de continuer son cloisonnement latéral, se divise transversalement; la cellule inférieure donne un massif cellulaire central, sur lequel se développent les archégones,

(1) Kny : *Entwicklung von Aspidium Filix-mas* : Botanische Wandtafeln. Berlin, 1874.

tandis que la cellule supérieure, par une série de cloisons médianes forme les cellules en palissades qui entourent les ailes prothalliennes.

C'est à partir de ce nouveau cloisonnement que commence à se



Prothalle mâle d'*Aspidium falcatum*.

dessiner, comme nous l'avons déjà vu, la forme de cœur des prothalles hermaphrodites des Polypodiacées indigènes.

Lorsque, par suite d'un cloisonnement anormal, la cellule génératrice reste terminale, comme cela arrive dans tous les cas où les conditions extérieures favorisent le développement rapide de l'appareil végétatif, cette cellule, par multiplication, forme une ou plusieurs languettes prothalliennes qui semblent avoir la valeur morphologique du méristème central. Aussi, dans ce cas, le prothalle

est-il de forme irrégulière et ne porte qu'un bourrelet médian rudimentaire dépourvu d'organes femelles. La formation des anthéridies ayant commencé de bonne heure, leur développement n'est en rien influencé par ce changement de la forme prothallienne.

La forme et la sexualité des prothalles des Polypodiacées indigènes dépendent donc en grande partie de leur mode de développement, lequel subit lui-même, l'influence des conditions extérieures.

On ne peut nier en effet que les conditions extérieures ont une influence manifeste sur la sexualité des végétaux inférieurs. Les travaux de VAN TIEGHEM et KLEBS l'ont prouvé depuis longtemps. Leurs recherches sur les Mucorinées, ont montré que pour le *Sporodinia* par exemple, on peut obtenir tantôt des sporanges, tantôt des zygotes, en changeant les conditions de milieu. Toute modification apportée à la nutrition, est la cause pour beaucoup de Champignons de la formation d'organes reproducteurs; on le constate d'autant plus facilement que chez les Thallophytes le processus de cette formation ne dure qu'un temps relativement court.

D'après KLEBS (1), la reproduction des Thallophytes se fait avec d'autant plus d'intensité, que la nutrition des parties végétatives est plus abondante avant ce phénomène, c'est-à-dire que la nourriture, dans sa qualité et dans sa quantité, est plus rapprochée de la composition chimique optima pour l'espèce en question.

D'autre part, KLEBS a également constaté que toute diminution dans l'arrivée de l'aliment, lorsque l'organe végétatif est complètement développé, favorise l'apparition des organes reproducteurs chez nombre de Champignons.

Il semble donc résulter de ces remarques, que le milieu nutritif a une action manifeste sur la formation des organes reproducteurs des Thallophytes.

Or, les prothalles se rapprochent par leur structure de ces végétaux inférieurs; il est donc à prévoir que le milieu aura sur leur développement et leur sexualité une influence, pour le moins aussi

(1) G. Seliber : *Les conditions extérieures et la reproduction chez quelques groupes du règne végétal d'après les travaux de Klebs.* (Rev. gén. bot. 1906.)

marquée puisque ces prothalles n'ont qu'un but : assurer la reproduction des Fougères.

II. — Influence du milieu nutritif.

Les recherches que nous avons poursuivies à cet effet, nous ont d'abord montré que les spores germant sur l'eau ou dans les sporanges ne donnent que des prothalles rudimentaires incapables d'assurer la reproduction. Lorsque ces prothalles ont épuisé les réserves de la spore, ils peuvent rester longtemps à cet état embryonnaire. Placés, même après un an, sur un milieu nutritif, ils reprennent leur développement et peuvent arriver à fructification. De sorte que, pour avoir un développement continu du prothalle, la germination de la spore doit se faire sur un milieu nutritif approprié.

Lorsque ce milieu est peu concentré comme les liqueurs de KNOPP et de DETMER diluées, la croissance des prothalles est lente, mais malgré tout, les organes reproducteurs mâles apparaissent normalement ; les organes femelles, au contraire, ne se montrent que sur le tard et souvent même ne se forment pas, les prothalles restant unisexués.

Nous avons cultivé sur liqueur de KNOPP des prothalles d'*Aspidium falcatum*, *Pteris cretica*, *Polystichum Oreopteris*, *Polypodium vulgare*, *Blechnum Spicant*, et après examen de vingt-cinq prothalles de chacune de ces cultures, voici les résultats auxquels nous sommes arrivés :

	Prothalles hermaphrodites	Prothalles unisexués
<i>Aspidium falcatum</i> . . .	6	19
<i>Pteris cretica</i>	4	21
<i>Polystichum Oreopteris</i> . .	15	10
<i>Polypodium vulgare</i> . . .	18	7
<i>Blechnum Spicant</i>	21	4

Ces résultats sont un peu différents de ceux obtenus par PRANTL avec *Osmunda regalis*, puisqu'il avait, dans tous les cas, réussi à empêcher la formation d'archégones sur les prothalles de cette

Fougère en les cultivant dans des solutions ne renfermant pas d'azote.

Les cultures sur milieu plus concentré et surtout riches en azote, donnent une proportion beaucoup plus forte de prothalles hermaphrodites.

Nous sommes arrivés à en avoir plus de la moitié avec *Aspidium falcatum* et *Pteris cretica* et près des neuf dixième avec les autres espèces mentionnées ci-dessus, en les cultivant sur la liqueur de Sachs, enrichie en azotate, et additionnée de glucose. Et fait à remarquer, si l'on enrichit en nitrate les premières cultures, à prothalles en majorité mâles, on ne tarde pas à voir le méristème voisin de l'échancrure du cœur se développer et des archégonies apparaître. Peut-être, faut-il voir là, une nouvelle activité donnée au cloisonnement de la cellule génératrice par l'apport d'azotates, qui favorisent, comme ont le sait depuis les travaux de PALLADINE (1), l'assimilation chlorophyllienne.

Il semble donc résulter de ces expériences, que conformément aux recherches de KLEBS et de PRANTL, un milieu très nutritif et surtout riche en azote, favorise d'une façon manifeste la formation des organes reproducteurs femelles. Les organes mâles, au contraire, se développent dans presque tous les cas, quelle que soit la composition du milieu, et apparaissent toujours les premiers. C'est ce qui explique que la majorité des prothalles unisexués sont des prothalles mâles.

La formation des archégonies, demande un cloisonnement très actif de la cellule génératrice, cloisonnement qui a surtout pour but d'épaissir le bourrelet médian sur lequel se développent les organes femelles. Dès que l'activité végétative est ralentie, ce bourrelet ne fait que s'ébaucher et les archégonies ne peuvent se former. Peut-être, est-ce une des raisons pour lesquelles on ne trouve guère sous les Fougères des bois, que des prothalles hermaphrodites, le milieu nutritif naturel étant généralement riche en azote.

Il est même probable que si les prothalles d'*Equisetum arvense* sont unisexués et assez souvent mâles, cela tient aux conditions

(1) Palladine: *Influence des sels minéraux sur l'assimilation chlorophyllienne.*
(C. R. de l'Académie des Sciences, 1899.)

de milieu, puisque BUCHTIEN (1) ayant transplanté des prothalles mâles pris sur un terrain maigre et sablonneux, dans un terrain fertile et argileux, obtint la formation d'archégones, et par suite des prothalles hermaphrodites.

III. — Influence de la lumière.

La lumière semble avoir une action prépondérante sur l'apparition et le développement des organes reproducteurs des prothalles des Polypodiacées.

Les prothalles, comme les Mousses, demandent pour se développer dans de bonnes conditions, une demi-obscurité, correspondant comme intensité au quart de la lumière solaire directe.

Lorsque les spores d'*Aspidium fulcatum*, *Pteris cretica*, *Polystichum Oreopteris* sont exposées dans un milieu humide et en pleine lumière, leur germination s'effectue rapidement; les premières cellules prothalliennes s'accroissent très vite mais la cellule génératrice perd bientôt la faculté de se cloisonner.

Le développement du prothalle ne peut donc pas se faire à l'exposition directe à la lumière solaire. Bien mieux, dans les rares exemples où un prothalle, mieux abrité, se développe, il est généralement stérile ou porte, tout au plus, de rares anthéridies. Comme l'a remarqué KLEBS (2) chez *Vaucheria repens* et *Edogonium capillare*, l'obscurité relative favorise l'apparition des organes reproducteurs.

Non seulement, d'après nous, une lumière faible favorise la multiplication des anthéridies, mais elle manifeste son influence d'une façon sensible, sur l'apparition des archégones. Nous avons souvent remarqué dans nos cultures que les prothalles du centre, mieux éclairés, nous donnaient une proportion plus grande d'unisexués, que les prothalles de la périphérie, abrités par le rebord des vases,

GÆBEL (3) avait déjà fait la même observation sur une petite Hépatique croissant dans les environs de Munich, la *Metzgeria*

(1) C. Heim : *Loc. cit.*

(2) G. Seliber : *Loc. cit.*

(3) Gœbel : *Loc. cit.* p. 6

furcata. Cette Hépatique qui vit sur les troncs d'arbre, donne de nombreux thalles; les thalles situés sur le haut du tronc et exposés en pleine lumière, sont généralement asexués ou unisexués mâles, ceux de la base au contraire sont hermaphrodites.

Cette influence de la lumière vient s'ajouter à celle du milieu nutritif pour expliquer l'hermaphroditisme des prothalles naturels.

Dans tous les cas, il est un fait indéniable, c'est qu'une demi-obscurité favorise le développement des organes reproducteurs des prothalles, et même la fécondation. Ainsi, ayant deux excellentes cultures de *Pteris Tremula* qui n'entraient pas en fructification, nous avons placé une de ces cultures à une faible obscurité, laissant l'autre exposée à la lumière; trois semaines après, la première montrait de nombreuses frondes en voie de développement, tandis que la seconde était restée à l'état primitif. D'ailleurs, C. HEIM (1) avait déjà remarqué dans ses recherches sur *Doodya caudata* que la fructification est maximum à la lumière diffuse faible.

Toutefois, il ne faudrait pas placer les cultures à l'obscurité complète car dans ce cas les prothalles ne peuvent se développer, par suite de l'absence de chlorophylle. Des prothalles de *Polystichum Oreopteris* bien formés et placés à l'obscurité la plus complète, non seulement n'ont pas fructifié, mais se sont totalement résorbés en moins d'un mois. La chlorophylle a commencé à disparaître le huitième jour vers les cellules latérales des ailes qui ont pris un aspect clair et réfringent, et cette disparition gagnant peu à peu le centre est arrivée à être définitive en vingt-cinq jours; à ce moment les prothalles se sont gélinés et résorbés totalement.

Il est donc nécessaire de surveiller l'arrivée de la lumière sur les cultures de prothalles, si l'on veut avoir un développement normal et une bonne fructification. La trop grande lumière, comme la complète obscurité, *fond* le prothalle suivant l'expression des horticulteurs; l'obscurité relative, au contraire, favorise la multiplication des anthéridies et le développement des archégones, condition première de la reproduction.

Restait à comparer l'action des diverses sortes de lumière sur

(1) C. Heim : *Loc. cit.*

le développement des prothalles et la formation de leurs organes reproducteurs. Il suffisait pour cela de faire les cultures en vases opaques, recouverts par des verres diversement colorés.

En examinant ces verres au spectroscope, nous avons pu remarquer que le verre bleu absorbe les rayons rouges à l'exception d'une petite bande entre B et C, et en plus, les rayons orangés, jaunes et une partie des violets; il laisse passer les rayons bleus, verts foncés et une petite quantité des rayons rouges et violets.

Le verre jaune absorbe tous les rayons entre les raies E et F jusqu'à H; il laisse donc passer les rayons rouges, jaune-oranges et une partie des rayons verts.

Le verre rouge absorbe les rayons bleus, violets et une grande partie des rayons verts.

Nous avons remarqué, d'autre part, que le verre bleu laisse passer une partie des rayons ultra-violets tandis que le verre rouge les absorbe presque totalement.

Les expériences ont été faites avec *Aspidium falcatum*, *Pteris cretica*, *Polystichum Oreopteris* et *Polypodium vulgare*.

Les spores ont germé dans les conditions ordinaires et, lorsque les prothalles commençaient à se former, l'un des vases témoin restait exposé à la lumière diffuse, tandis que les autres étaient respectivement recouverts de verres bleu, jaune, rouge et violet; de la sorte, la comparaison était facile puisque seule, la lumière pouvait amener des différences entre les cultures.

Les cultures sous verre bleu, dans les quatre cas, furent de végétation moyenne; les prothalles étaient plus allongés qu'à la lumière ordinaire et présentaient des découpures plus accentuées. Les anthéridies se formèrent normalement, mais les archégonies n'apparurent que sur les prothalles de *Polystichum Oreopteris* et *Polypodium vulgare*, ceux d'*Aspidium falcatum* et *Pteris cretica* restèrent unisexués.

Les cultures sous verre jaune, sont rabougries. L'héliotropisme positif des ailes prothalliennes se manifeste d'une façon frappante; ces ailes se redressent au lieu de rester étalées sur le sol et s'enroulent en cornet autour du bourrelet médian peu accentué. Les rhizoïdes latéraux, attirés par les ailes des prothalles, abandonnent le milieu nutritif et croissent dans n'importe quelle direction. La forme des prothalles reste donc mal définie; les anthéridies sont

peu nombreuses et placées au milieu des rares rhizoïdes de la base du cornet ; quant aux archégones, elles n'apparaissent généralement pas.

PRANTL et à sa suite C. HEIM avaient déjà constaté qu'à la lumière jaune, la croissance en largeur des prothalles se fait mal, précisément parce que les rhizoïdes abandonnent le milieu nutritif par suite de la position semi-verticale prise par les ailes prothalliennes.

Les verres rouges donnent des cultures exubérantes, riches en chlorophylle, et augmentent la tendance à l'unisexualité ; près de la moitié de prothalles de *Polystichum Oreopteris* et *Polypodium vulgare*, cultivés dans ces conditions, présentaient uniquement des anthéridies.

Les prothalles cultivés sous verre violet ont un développement rapide avec verdissement intense. Ces prothalles s'étendent surtout en surface ; la forme de cœur est peu nette et les anthéridies sont plus nombreuses qu'en temps normal, les archégones se sont développées même sur les prothalles d'*Aspidium falcatum* et de *Pteris cretica*. Il est probable qu'on obtiendrait les mêmes résultats avec des cultures exposées à la lumière électrique, puisque le spectre des lampes à arc ne diffère guère du spectre solaire que par l'addition des rayons violets et ultra-violets.

La lumière, comme on le voit, joue donc un grand rôle dans le développement et la sexualité des prothalles, puisque, quelles que soient les conditions de milieu nutritif, on peut, par un éclaircissement approprié, retarder et même empêcher le développement des organes reproducteurs femelles.

IV. — Influence de la température.

La température a une grande action sur la durée de germination des spores et sur le développement des prothalles.

La plupart des spores de Polypodiacées commencent à germer vers le douzième jour à la température de la serre des Orchidées du Jardin des plantes de Clermont-Ferrand, température moyenne d'environ 25°. Celles de *Pteris cretica*, *Polystichum Oreopteris*, *Polypodium vulgare* s'ouvrent un peu avant celles

d'*Aspidium falcatum* et de *Blechnum Spicant*. Ces mêmes spores placées à la température de 15°, température de la serre de l'Ecole Normale de Clermont-Ferrand, attendent quinze jours environ avant de germer ; à la température moyenne de 10°, la germination est très irrégulière et bon nombre de spores ne s'ouvrent même pas.

Si la température influe sur la durée de la germination des spores, cette influence est plus sensible encore sur le développement des prothalles. Placés dans une atmosphère à 25° les prothalles se forment rapidement, et en moins de trois mois, ceux d'*Aspidium falcatum*, *Blechnum Spicant*, *Pteris tremula*, *Polystichum Oreopteris*, ont atteint leurs dimensions définitives ; ce temps est un peu plus long pour *Polypodium vulgare*, *Pteris argyrea* et *Asplenium Trichomanes*.

Au point de vue de la sexualité, nous avons trouvé pour les prothalles cultivés à cette température avec exposition à la lumière diffuse, les résultats suivants basés sur l'examen de vingt-cinq prothalles de chaque culture.

	Prothalles hermaphrodites	Prothalles unisexués.
<i>Aspidium falcatum</i>	4	21
<i>Pteris cretica</i>	5	20
<i>Polystichum Oreopteris</i> . . .	17	8
<i>Polypodium vulgare</i>	18	7
<i>Blechnum Spicant</i>	20	5

A la température de 15°, ces prothalles se développent plus lentement ; ils deviennent moins larges et sont plus régulièrement cordiformes. Au point de vue de la sexualité, voici les résultats obtenus après examen de vingt-cinq prothalles de chaque culture.

	Prothalles hermaphrodites	Prothalles unisexués
<i>Aspidium falcatum</i>	9	16
<i>Pteris cretica</i>	10	15
<i>Polystichum Oreopteris</i> . . .	19	6
<i>Polypodium vulgare</i>	21	4
<i>Blechnum Spicant</i>	23	2

De ces constatations, il résulte qu'une température relativement élevée favorise le développement végétatif et influe sur la sexualité en déterminant chez certaines espèces une tendance très nette à l'avortement des archégones.

V. — Influence de l'humidité.

L'humidité est l'élément indispensable à la germination des spores.

La plupart des spores de Polypodiacées germent sur l'eau à une température de 25° environ, donnant des prothalles rudimentaires, bientôt arrêtés dans leur développement faute d'éléments nutritifs. On sait que ces prothalles peuvent ainsi passer à l'état de vie ralentie, et se développer longtemps après, si on les place sur des milieux nutritifs appropriés. Mais, pour qu'il en soit ainsi, il faut que ces prothalles n'aient pas cessé de rester sur l'eau ou dans une atmosphère saturée; exposés à l'air sec, ils se dessèchent rapidement et meurent. Ils sont d'ailleurs si frêles qu'on ne peut les fixer sans les déformer totalement.

L'eau entre en grande partie dans la constitution des prothalles de Polypodiacées; ayant pesé un gramme des prothalles suivants: *Aspidium falcatum*, *Pteris Tremula*, *Polystichum Oreopteris*, *Blechnum Spicant*, *Polypodium vulgare*, nous avons trouvé après dessiccation lente, mais complète, que ce poids était devenu pour:

<i>Aspidium falcatum</i> . . .	0 gr. 25
<i>Pteris Tremula</i>	0 gr. 19
<i>Polystichum Oreopteris</i> . .	0 gr. 27
<i>Blechnum Spicant</i>	0 gr. 29
<i>Polypodium vulgare</i> . . .	0 gr. 23

Ce qui montre la grande quantité d'eau que renferment les cellules prothalliennes.

Dès que l'air n'est plus saturé d'humidité, les prothalles présentent des rides, se flétrissent et passent à l'état de vie ralentie, ou meurent si la dessiccation est trop grande.

Mais si l'humidité est nécessaire pour le développement du prothalle, elle l'est encore bien plus pour la fécondation.

Très souvent, la fructification ne se fait pas, parce que les anthérozoïdes tombent sur le sol desséché et ne peuvent se mouvoir pour aller à la rencontre de l'archégone. Ce qui le montre, c'est qu'avec un arrosage copieux, à l'époque de la fécondation, on active et multiplie la fructification.

Le développement des prothalles en surface semble d'ailleurs avoir pour but de maintenir l'humidité sous leurs ailes, pour faciliter les mouvements des anthérozoïdes; lorsque ces ailes sont relevées en cornet comme dans *Pteris Tremula* et *Blechnum Spicant*, la fructification est toujours moins abondante.

VI.— Influence de l'époque des semis.

Cette influence est manifeste sur la germination des spores. Contrairement à ce qui se passe chez nombre de graines qui germent d'autant mieux qu'elles sont plus vieilles, les spores perdent très rapidement leur pouvoir germinatif. Comme nous l'avons montré au début, après un an, bien peu de spores peuvent encore germer. Par suite, plus l'époque des semis sera rapprochée de la maturité de la spore, mieux la germination sera assurée.

Les plus belles cultures nous ont été données par les spores semées en mars; ces spores avaient été prises sur des frondes de Fougères cultivées en serre. Les prothalles obtenus ont fructifié en abondance sauf pour *Pteris argyræa* et *Blechnum Spicant*. L'examen de ces prothalles nous a d'ailleurs montré une très faible tendance à l'unisexualité, car les prothalles mâles étaient en très faible proportion. Il faut ajouter que les prothalles naturels trouvés par nous, l'ont été au printemps, ce qui porte à croire que c'est l'époque normale de la germination des spores.

Les mêmes semis, faits en mai et juin, avec des spores identiques prises sur les mêmes frondes, ont été loin de nous donner d'aussi beaux résultats. Nombre de spores n'ont pas germé et les cultures obtenues marquent une tendance très nette à l'avortement des archégones. C'est avec ces cultures que les prothalles d'*Aspidium*

falcatum et *Pteris cretica* nous ont donné le plus grand nombre de cas d'apogamie.

Les conditions extérieures ont donc une influence manifeste sur le développement et la sexualité des prothalles de Polypodiacées. Il n'est donc pas étonnant que les cultures en serre modifient ces prothalles dans leur aspect aussi bien que dans le nombre et la répartition de leurs organes reproducteurs, il serait donc imprudent de considérer comme normales, les formes prothalliennes obtenues par de telles cultures.

CHAPITRE V

ROLE DES PROTHALLES DANS LA CLASSIFICATION DES POLYPODIACÉES

L'étude morphologique des prothalles de Polypodiacées ne permet pas d'établir des conclusions bien nettes au point de vue de la classification.

Sans doute, ces prothalles sont différents, mais faut-il considérer comme des formes nettement définies celles que nous avons étudiées ? La forme des prothalles dépend certainement de l'espèce, mais, comme nous l'avons déjà indiqué, elle est aussi manifestement influencée par les conditions extérieures : lumière, température, humidité, etc. PRANTL (1) va même jusqu'à prétendre qu'aucun organe végétal n'est, quant à sa forme, aussi dépendant des conditions extérieures que les prothalles de Fougères.

Ainsi, le prothalle de *Polypodium vulgare* cultivé en serre, diffère à tel point de celui formé sur place, sous la plante-mère, qu'il est à peu près impossible de les identifier.

Le développement des prothalles cultivés artificiellement est d'ailleurs, en général, très différent de celui des prothalles naturels puisque nous avons vu que la proportion des prothalles hermaphrodites et unisexués, s'éloignait sensiblement dans les deux cas, et cela, chez la plupart des espèces examinées.

Sans doute, il serait à désirer avec GÆBEL (2) que la classification des Fougères ne soit pas exclusivement basée sur les carac-

(1) Prantl : *Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Bilateralität der Farnprothallien*. (Bot. Zeit. 1879.)

(2) Gæbel : *Loc. cit.* p. 6.

tères de la plante sexuée. L'étude du prothalle devrait fournir, soit dans sa forme extérieure, soit dans la position et la constitution de ses organes reproducteurs, des caractères distinctifs ; malheureusement cette étude est encore trop incomplète et nos connaissances sur les prothalles trop limitées, pour qu'on puisse fonder sur eux, d'une façon certaine et indiscutable, une classification des Ptéridophytes.

Ainsi, d'après METTENIUS (1), le prothalle des Hyménophyllées est caractérisé par sa forme filamenteuse et l'absence de cellule initiale. Or, dans nombre d'Hyménophyllées, ce filament par division longitudinale d'un certain nombre de cellules successives, finit par donner naissance à un plan cellulaire étroit et rubanné.— Bien mieux, dans *Hymenophyllum Tunbridgense*, ce filament se transforme en une expansion plane, terminée au sommet par une cellule cunéiforme, produisant des segments à droite et à gauche.

Les caractères donnés par METTENIUS ne s'appliquent donc pas à tous les prothalles d'Hyménophyllées.

Les prothalles d'Osmondacées sont mieux définis. Comme ceux des autres Polypodiacées, ils présentent la forme d'un cœur allongé, à échancrure assez mal dessinée ; mais, à l'inverse de ce qui se trouve normalement dans les prothalles que nous avons étudiés, les anthéridies sont sur une crête médiane et les archéogones sur le côté. On sait, d'autre part, qu'il est impossible de faire les cultures d'Osmondacées en milieu stérile, les prothalles de ces Fougères ayant besoin d'un endophyte pour se développer.

Mais malgré tout, comme RAUWENHOFF (2) l'a montré, à part ce caractère essentiel qui distingue ce prothalle de celui des autres Ptéridophytes, de nombreux types de transition se trouvent dans les Gleichéniacées, pour arriver au prothalle cordiforme des Cyathéacées et des Polypodiacées.

Le prothalle des Cyathéacées se différencie assez nettement des prothalles de Polypodiacées par ses poils pluricellulaires, poils formés par excroissance de cellules marginales ; malheureusement ces poils existent également dans certains prothalles d'*Anei-*

(1) Mettenius : *Ueber die Hymenophyllaceen*. (Abh. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. t. VII. 1864.)

(2) Rauwenhoff : *La génération sexuée des Gleichéniacées* (Arch. néer. t. XXIV)

mia et d'*Aspidium falcatum* ; ce caractère n'est donc pas distinctif.

Les prothalles d'*Aneimia* et des Schizéacées en général, sont nettement disymétriques. Ils ont été étudiés à fond par BAUKE (1) et BURCK (2) qui en ont fixé la forme par le dessin.



Prothalle d'*Aneimia*.

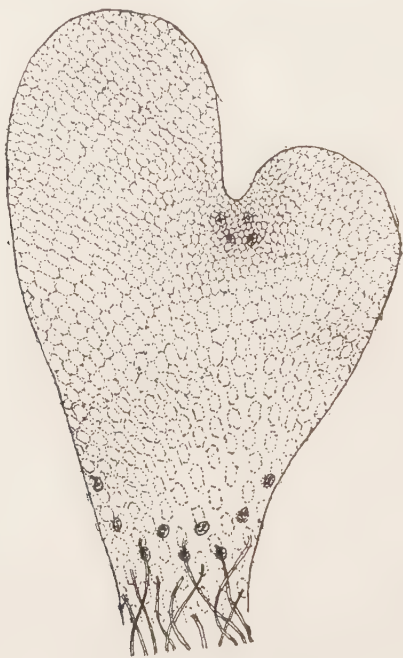
D'après BAUKE, la division cellulaire du prothalle des *Aneimia* se fait toujours avec plus d'activité en un point latéral, lequel, chez le proembryon déjà un peu âgé, occupe ordinairement le fond d'une légère sinuosité ; en ce point on observe distinctement une cellule cunéiforme qui produit de chaque côté des segments comme cela a lieu pour la cellule apicale des prothalles de *Polypodiacees*.

À l'endroit où la division cellulaire est la plus active, il se forme

(1) Bauke : *Entwicklungsgeschichte des Prothalliums bei den Cyatheaceen* (Pringsheim's Jahrb, t. X.)

(2) Burck : *Sur le développement du prothalle des Aneimia, comparé à celui des autres Fougères.* (Arch. néer. t. X.)

un sinus dans le cours du développement ; plus tard ce sinus, par suite de l'accroissement plus rapide de la partie située derrière lui, se déplace peu à peu et finit par occuper le milieu du prothalle ; en arrière de cette dépression, comme dans les Polypodiacées, se trouve le coussinet cellulaire, de sorte que finalement le proembryon d'*Aneimia* se distingue à peine de celui des autres Fougères supérieures.



Prothalle de *Pteris longifolia*.

Dans les prothalles d'*Aneimia* la division cellulaire la plus active procède donc d'une cellule marginale cunéiforme, tandis que chez les Polypodiacées, elle procède d'une cellule apicale.

D'ailleurs, il est à remarquer que le prothalle de *Pteris longifolia* peut servir de transition, puisque sans présenter un plan cellulaire latéral, il montre dans son développement le méristème sur le côté avec deux ailes nettement disymétriques.

En résumé, si la morphologie des prothalles permet d'aider à la

classification des Fougères en général, elle ne saurait comme nous le voyons, servir de base à cette classification. La forme des prothalles est trop variable et dépend trop des conditions extérieures pour fournir des caractères fixes, seuls utilisables dans l'établissement d'une systématique raisonnée des Ptéridophytes.

L'étude histologique des organes reproducteurs peut fournir des caractères mieux définis. Ainsi, par exemple, d'après C. HEIM (1) tous les prothalles d'Hyménophyllées, Osmondacées, Cyathéacées et Gleichéniacées détachent régulièrement la cellule terminale de l'anthéridie au moment de la mise en liberté des anthérozoïdes, tandis que dans les Schizéacées et les Polypodiacées, cette cellule bien étudiée par SRASBURGER (2) se déchire en tous sens ; c'est là un caractère fixe que l'on retrouve dans toutes les anthéridies, quelle que soit d'ailleurs la sexualité des prothalles.

A la suite de GEBEL (3) et C. HEIM nous avons cherché des caractères distinctifs pouvant permettre d'isoler les prothalles des Polypodiacées exotiques de ceux des Polypodiacées indigènes.

Dans les Polypodiacées indigènes, le prothalle hermaphrodite a toujours plus ou moins la forme d'un cœur et le développement se fait toujours par les cloisonnements d'une cellule génératrice en coin. Les anthéridies naissent à la base, entre les rhizoïdes, ou sur les côtés, mais ne se forment pas aux dépens des cellules marginales. Les archégonies sont toujours situées sur un tissu médian, rembourré, allant de la tête au pied ; elles sont d'autant plus jeunes qu'elles se trouvent plus près de l'échancrure du cœur.

Au contraire, dans les Polypodiacées exotiques, si la cellule en coin se retrouve et reste génératrice, la forme du cœur est souvent assez mal définie. D'autre part, le méristème se trouve fréquemment sur le côté, comme dans *Gymnogramme chrysophylla*, bien qu'étant de formation terminale, contrairement à ce qui se passe chez les Schizéacées.

Le filament proembryonnaire se développe, le plus souvent, en

(1) C. Heim : *Loc. cit.*

(2) Strasburger : *Die Befruchtung bei den Farnkräutern.* (Pringsheim's Jahrb. t. VII.)

(3) Gœbel : *Entwicklungsgeschichte des prothalliums von Gymnogramme leptophylla.* (Bot. Zeit. 1877.)

forme de spatule par suite de nombreux cloisonnements longitudinaux.

Dans la majorité des espèces du genre *Gymnogramme*, le prothalle, par suite du développement rapide des cellules marginales, finit par prendre la forme d'un cœur avec échancrure assez accentuée ; il n'en est pas de même avec le genre *Anogramme* qui d'après C. HEIM, s'éloigne davantage des prothalles de Polypodiacées, en perdant complètement l'aspect cordiforme.

En ce qui concerne les Polypodiacées exotiques des genres *Wittaria*, *Anthrophyum*, *Anetium*, *Hécistopteris*, d'après les descriptions données par GÆBEL (1), leurs prothalles se rapprochent beaucoup plus de ceux des Hyménophyllées que de ceux de Polypodiacées : leur contour est irrégulier, ils se développent sans cellule de tête et se ramifient en branches portant latéralement des anthéridies et des archégonies disposées régulièrement partout où il y a du méristème. Il faut toutefois en excepter le prothalle d'*Anthrophyum*, qui examiné à Java par GÆBEL, est plus ou moins cordiforme et peut servir de transition pour arriver aux espèces inférieures. Il est d'ailleurs à remarquer qu'il n'est pas étonnant de voir les prothalles de ces Fougères perdre la forme type, car ces Fougères croissant dans des endroits chauds et humides, l'appareil végétatif se développe surtout et se ramifie d'une manière irrégulière à la façon des prothalles cultivés en serres.

Nous avons essayé en vain de nous procurer ces prothalles car nous aurions bien voulu les examiner ; d'après nous, ils doivent être en majorité unisexués. Ce qui semble le laisser croire c'est que, comme l'a remarqué GÆBEL (1), la multiplication se fait le plus souvent dans le genre *Hécistopteris* par bourgeons naissant directement sur les racines.

Il est regrettable que GÆBEL n'ait pu faire germer les spores rapportées par lui de son voyage d'études dans l'Amérique du Sud, parce qu'il est probable que ces spores, dans d'autres conditions de milieu, auraient pu donner des prothalles hermaphrodites à forme plus typique. En définitive, les prothalles des Polypodiacées exotiques présentent assez de caractères différentiels pour

(1) Gæbel : *Loc. cit.* p. 6.

être distingués de ceux des Polypodiacées indigènes. Par des cultures faites dans les mêmes conditions, ces caractères s'atténueraient peut-être ; mais, vu la difficulté de se procurer, et surtout de faire germer les spores de ces espèces inférieures, la question attendra longtemps avant d'être résolue définitivement.

Il restait à se demander si les caractères des prothalles des Polypodiacées indigènes pouvaient aider à la classification de ces Fougères.



Prothalle de *Polypodium Dryopteris*.

On divise généralement les Polypodiacées suivant la forme, la position et la protection des sores, en quatre tribus d'après le tableau suivant :

I. Sores nus, non protégés. POLYPODIÉES

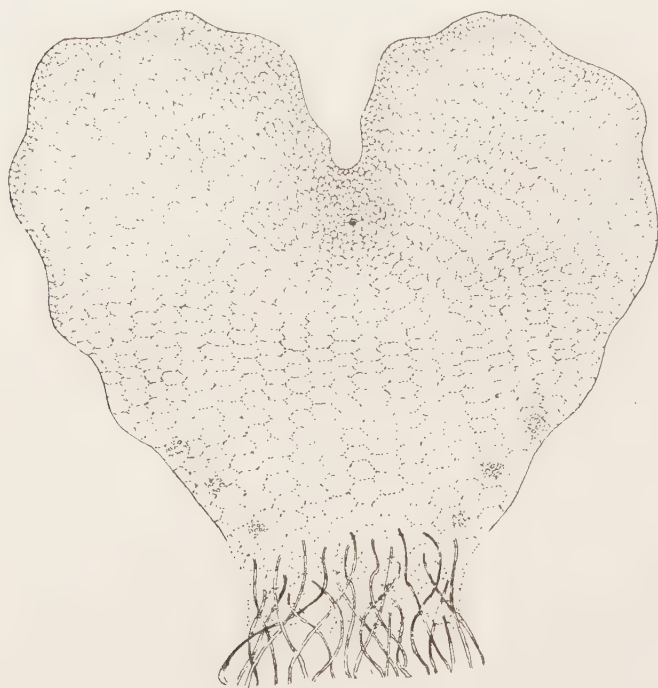
II. Sores protégés par le bord replié de la
feuille PTÉRIDIÉES

III. Sores protégés par une indusie médiane
en parasol ASPIDIÉES

IV. Sores protégés par une indusie latérale
en toit ASPLÉNIÉES

Dans chaque tribu, se trouve un certain nombre de genres différenciés par l'aspect des frondes.

La forme des prothalles ne fournit pas des caractères distinctifs importants pour contribuer, d'une manière efficace, à cette classification.



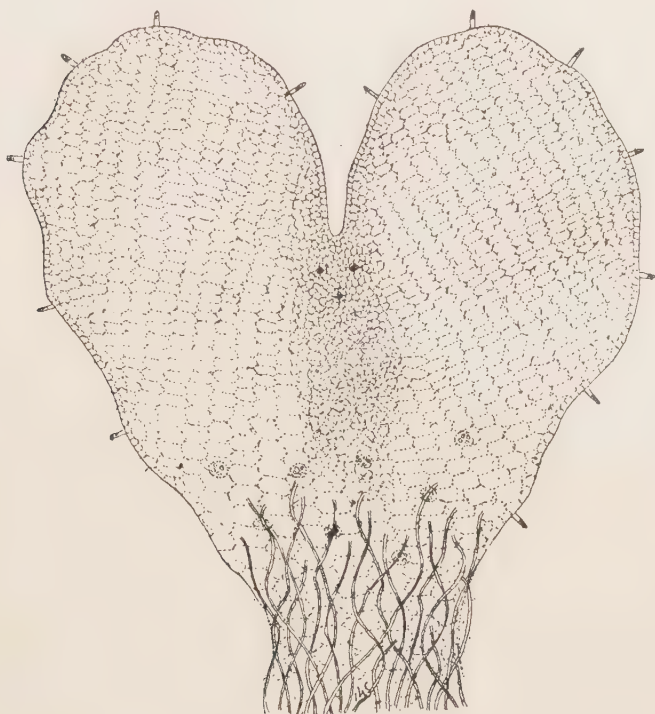
Prothalle de *Pteris cretica*.

Les prothalles des Polypodiées (genres *Polypodium* et *Gymnogramme*) sont nettement cordiformes, comme le montre la figure de la page précédente représentant un prothalle de *Polypodium Dryopteris*.

Ces prothalles sont le plus souvent hermaphrodites, présentent, près de l'échancrure trois à cinq archégones et, à la base, de nombreuses anthéridies distribuées au milieu des rhizoïdes.

Les prothalles des Ptéridées (genres *Pteris*, *Adiantum*) ont une forme plus allongée et moins régulière. Ils ont une tendance mar-

quée pour l'unisexualité. Lorsqu'ils sont hermaphrodites, les archéogones sont rares ; par contre, les anthéridies sont assez nombreuses et distribuées surtout latéralement. On sait que c'est sur le prothalle de *Pteris cretica* qu'ont été observé les premiers phénomènes d'apogamie.

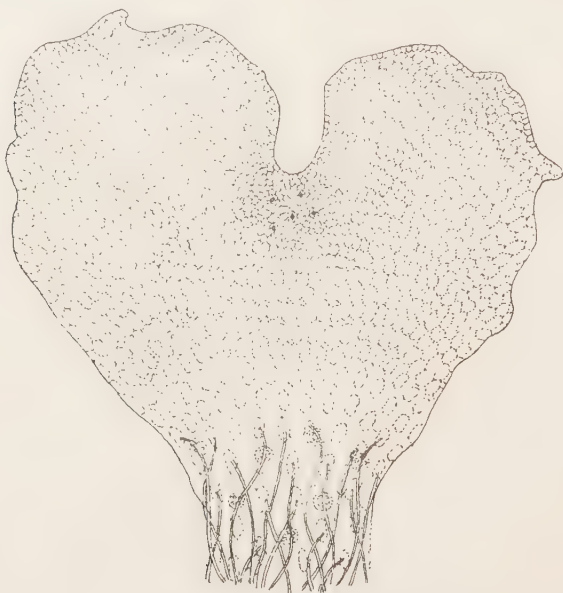


Prothalle d'*Aspidium falcatum*.

Les prothalles d'Aspidiées (genres *Aspidium* et *Polystichum*), sont faciles à reconnaître à la forme élégante et aux poils marginaux que présentent certaines espèces, dont *Aspidium falcatum*. Ces prothalles sont assez fréquemment hermaphrodites, mais il y a lieu de remarquer que la fécondation est assez rare ; dans *Aspidium falcatum* nous ne l'avons même jamais rencontrée ; avec cette espèce, il y a le plus souvent apogamie.

Enfin, les prothalles des Aspléniées (genres *Cystopteris*, *Athy-*

rium, *Asplenium*, *Scolopendrium* et *Blechnum*) sont le plus souvent irréguliers. Nous avons déjà cité les formes de *Cystopteris fragilis*, de *Blechnum Spicant*, d'*Asplenium Ruta-muraria* et de *Scolopendrium officinale* comme types de prothalles fréquemment lobulés. On peut y joindre celui d'*Athyrium Filix-femina* dont le dessin est ci-dessous. Ces prothalles sont, en gé-



Prothalle d'*Athyrium Filix-femina*.

néral, hermaphrodites et se multiplient rapidement par production de prothalles adventifs.

En définitive, si l'étude des prothalles nous fournit quelques caractères que l'on peut appliquer à la classification des Polypodiacées et des Ptéridophytes en général, il serait imprudent de trop faire état, pour l'instant, de ces caractères dont la plupart sont par trop sujets à variation et encore loin d'être établis d'une manière définitive.

CHAPITRE VI

HISTOLOGIE DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES

La structure des prothalles des Polypodiacées est assez simple. Leur tissu est formé par des cellules de forme variable, mais très peu différenciées. Celles du pied, sont volumineuses, lâches et émettent de nombreux rhizoïdes ; celles des ailes sont généralement allongées et bourrées de granulations, tandis que les cellules du coussinet médian sont petites et serrées, formant un tissu compact au milieu duquel se développent les archégones.

La membrane de ces cellules présente un certain nombre des réactions de la cellulose. Ainsi, le prothalle, décoloré par l'hypochlorite de soude et lavé, disparaît à peu près totalement dans le réactif de SCHWEITZER. Lorsqu'on traite ce même prothalle décoloré par l'eau iodée, en ajoutant sur la préparation, pour enlever l'excès de liquide, une goutte d'acide sulfurique très dilué, la membrane prend par endroits une légère coloration bleue. Mais ce qui montre que cette membrane n'est pas de la cellulose pure, c'est qu'elle se dissout partiellement, non seulement dans l'acide sulfurique dilué, mais dans presque tous les acides étendus.

A l'exemple de SCHULZ, on peut appeler cette cellulose, hémicellulose, et la considérer comme une matière de réserve. Ce qui semble prouver qu'il en est ainsi, c'est que les prothalles se résorbent totalement, membrane et contenu, au moment du développement de la jeune fronde. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle on

donnait autrefois le nom de fongine à ce principe isomère de la cellulose.

Le mode d'accroissement de la membrane en épaisseur est facile à étudier chez les prothalles, et en particulier avec le prothalle de *Pteris cretica*.

En examinant au microscope les ailes de ce prothalle, on constate que la membrane devient de plus en plus épaisse en partant des cellules du pied pour arriver à celles du sommet. Bien qu'homogène en apparence, on constate en l'examinant au fort grossissement qu'elle est formée de lamelles très minces formant des couches superposées. La membrane des prothalles s'accroît donc en épaisseur par apposition, c'est-à-dire par le dépôt de lamelles nouvelles, ne subissant plus, une fois formées, d'épaississement ultérieur. Toutes ces lamelles n'ont pas évidemment la même composition chimique; suivant leur ancienneté, elles subissent des modifications, ce qui explique qu'elles ne présentent pas des colorations uniformes avec les réactifs ordinaires de la cellulose. Probablement, la membrane la plus ancienne est constituée par une mince lamelle de cellulose, sur laquelle sont venues s'appliquer par apposition, de nombreuses couches, d'épaisseur variable et de nature mal définie, où l'on retrouve des composés amylacés et pectiques destinés à la nourriture de la jeune Fougère.

Le contenu des jeunes cellules de prothalle se compose uniquement d'un fin réseau protoplasmique, dont les mailles sont occupées par du suc cellulaire. C'est dans les mailles de ce réseau que se déposent les premières granulations. Ces granulations sont d'abord incolores; celles de la périphérie ne tardent pas à présenter quelques points verts, tandis que celles du centre deviennent plus réfringentes: les premières sont des chloroleucites, les secondes, des grains d'amidon en voie de formation.

Les chloroleucites se disposent généralement, comme cela se voit dans les prothalles de *Pteris cretica*, *Polystichum Oreopteris* et *Pteris aquilina*, à la périphérie de la cellule, surtout le long des membranes latérales, laissant au centre le protoplasma au milieu duquel on peut, par les réactifs ordinaires, reconnaître de nombreux grains d'amidon.

Dans la disposition de ces grains, il n'y a donc pas la même

irrégularité que l'on trouve dans les cellules des feuilles de Phanérogames.

Le nombre des chloroleucites est fort variable suivant les espèces. Contrairement à ce qui se passe pour les feuilles, la multiplication de ces grains se fait surtout à la lumière diffuse, la lumière solaire directe gênant le développement du prothalle.

La formation de l'amidon est intimement liée comme chez les Phanérogames à l'assimilation chlorophyllienne. Il était intéressant de rechercher l'amidon dans les prothalles de Polypodiacées à différents états de leur développement en même temps que d'étudier comment variait cette quantité d'amidon suivant les conditions de milieu. Le procédé ordinaire qui consiste, après avoir lavé les prothalles à l'eau tiède, à les plonger dans l'alcool à 75° pour dissoudre la chlorophylle, et enfin dans l'eau iodée, pour colorer l'amidon, ne donne pas de très bons résultats : l'eau iodée pénètre lentement dans les cellules et seuls, les plus gros grains d'amidon apparaissent en bleu.

Le procédé MARCHAL (1) est de beaucoup supérieur : son seul inconvénient, c'est d'être long et délicat. Les prothalles bien lavés sont placés dans de petits tubes à essai contenant de l'alcool à 95° et exposés à la lumière pendant quelques jours. Après décoloration complète, ils sont lavés soigneusement à l'eau distillée, puis placés en tubes dans une solution aqueuse d'hydrate de potasse à dix pour cent.

La durée du séjour dans ce réactif est de trois heures environ. Des lavages répétés éliminent ensuite la potasse dont les traces restantes sont neutralisées par l'acide acétique concentré. Après élimination de ce dernier, les échantillons sont enfin traités à la glycérine iodée. Comme nous le verrons plus tard, la glycérine iodée a, de même que l'alcool, une tension superficielle très faible ; elle traverse, par suite, facilement les membranes ainsi que l'avait déjà remarqué KLEBS, et se met en contact avec les grains d'amidon qu'elle colore en bleu. Nos expériences ont porté sur un assez grand nombre de prothalles recueillis deux et trois mois après semis, c'est-à-dire, avant la fécondation et au moment de la fruc-

¹Marchal El. et Em. : *Recherches physiologiques sur l'amidon des Bryophytes.* (Bulletin de la Société royale de botanique de Belgique, t. XLIII. 1906.)

tification. Ces prothalles cultivés dans les mêmes conditions ont été récoltés à la même heure (dix heures du matin).

A l'examen des premiers, on remarque qu'on peut les diviser en trois groupes d'après leur teneur en amidon.

Dans le premier groupe, on peut placer *Pteris cretica*, *Scolopendrium officinale* et *Polypodium Oreopteris*. Ces prothalles ont peu d'amidon dans les cellules lâches du pied, mais en sont largement pourvus dans les cellules des ailes et cela d'autant plus abondamment qu'on se rapproche davantage de la périphérie. Les cellules du bourrelet médian sont dans tous les cas gorgées de grains d'amidon.

Au deuxième groupe, appartiennent les prothalles de *Cystopteris fragilis*, *Blechnum Spicant*, *Ceterach officinarum* qui sont surtout riches en amidon dans le coussinet, mais en sont partiellement dépourvus dans les cellules latérales, et presque totalement dans les cellules du pied.

Les prothalles de *Pteris aquilina* et *Aspidium falcatum* prennent place dans le troisième groupe caractérisé par un abaissement sensible dans le nombre des grains d'amidon, même en ce qui concerne les cellules du bourrelet médian.

En examinant ces résultats, on peut remarquer, comme nous le verrons plus tard, que c'est précisément les prothalles les plus riches en chlorophylle, qui sont également les plus riches en réserves amylacées.

L'assimilation chlorophyllienne favorise donc chez les prothalles comme chez les Phanérogames la production d'amidon.

La recherche de l'amidon dans les prothalles en fructification était plus délicate ; il fallait en effet, prendre des prothalles portant des frondes de même dimension pour établir une comparaison. Les résultats peuvent être généralisés : dans tous les prothalles examinés, les grains d'amidon des cellules de la périphérie étaient aussi nombreux qu'avant la reproduction ; par contre, ceux de la partie du bourrelet médian, situés au voisinage du pied de la jeune fronde avaient à peu près totalement disparu.

Ayant traité par l'eau chaude plusieurs de ces prothalles écrasés et pilés, nous aurons reconnu la présence très nette de glucose au moyen de la liqueur de FEHLING.

Les grains d'amidon disparus avaient donc été transformés en

sucres par une diastase, secrétée vraisemblablement par le pied de la jeune fronde, puisque cette disparition ne s'effectue qu'à son voisinage. Les réserves amylacées du prothalle ont donc pour but de fournir les premiers aliments indispensables au développement de la jeune Fougère. Et, de même que la diastase n'apparaît dans la germination des graines de céréales qu'à la suite d'une respiration plus active, de même, comme nous le verrons plus loin, l'activité respiratoire du prothalle est surtout manifeste au moment du développement de l'œuf.

Il y a lieu de remarquer que la production de diastase reste limitée au pied de la jeune fronde, car les cellules un peu éloignées conservent leur amidon. Ces cellules arrivent peu à peu au contact du pied par suite de l'absorption du contenu des cellules qui en sont le plus rapprochées; de cette manière, le prothalle diminue peu à peu de surface. Cette diminution porte tout d'abord sur l'aile dans laquelle s'enfonce le pied, de manière à donner rapidement au prothalle une forme irrégulière. En un mot ce prothalle *fond*, absorbé peu à peu par la jeune fronde.

Toutefois, les réserves amylacées sont en plus grande proportion qu'il ne convient pour assurer le premier développement de l'embryon. La racine apparaît bien avant que ces réserves soient épuisées; elle ne tarde pas à s'organiser et à croître rapidement en longueur, de sorte que le prothalle n'a pas perdu le tiers de sa surface que la racine suffit à sa nourriture.

La jeune fronde se développe d'ailleurs parallèlement et en peu de temps est bourrée de grains chlorophylliens destinés à transformer les matières minérales absorbées en substances organiques nutritives.

En coupant les ailes prothalliennes et le pied de la jeune fronde lorsque celle-ci avait cinq millimètres de longueur, nous avons vu le développement se continuer pour : *Polypodium Oreopteris*, *Polypodium vulgare*, *Blechnum Spicant*.

Seuls *Pteris cretica* et *Aspidium falcatum* se sont flétris.

Dans ces deux espèces, la racine se développe moins rapidement que dans les autres, et porte un nombre moins grand de poils absorbants. Il est à remarquer que les racines ont généralement une longueur double et même parfois triple de celle de la jeune

fronde comme cela se voit dans *Polystichum Oreopteris* et *Polypodium vulgare*.

En définitive, grâce à cette formation rapide des organes végétatifs, même avec de petites réserves d'amidon, la jeune Fougère peut arriver à un complet développement.

Cela est très heureux, car nombre de prothalles naturels plus ou moins à l'obscurité, ont de faibles réserves amylacées. L'obscurité, en effet, empêchant la multiplication des grains chlorophylliens, diminue la production d'amidon. Nous avons placé quelques-uns des prothalles étudiés précédemment, à l'obscurité complète et nous avons remarqué que les réserves amylacées disparaissaient peu après la chlorophylle. Cette disparition a été complète après vingt jours pour *Aspidium falcatum*, vingt-trois jours pour *Polystichum Oreopteris* et après vingt-huit pour *Pteris cretica*.

Il est à noter que le temps demandé pour amener la disparition complète de l'amidon chez les prothalles placés à l'obscurité est plus long que chez les Phanérogames où cette disparition se fait en quelques jours.

Il semble donc que la nature ait donné à ces prothalles une force de résistance considérable, eu égard aux mauvaises conditions de développement dans lesquelles ils peuvent être placés.

La sécheresse momentanée, elle-même, amenant une dessiccation lente du prothalle, ne détermine pas une entière disparition des matières amylacées. Nous avons enlevé un certain nombre de prothalles de *Polystichum Oreopteris* avec la terre adhérente aux rhizoïdes et les avons exposés directement à la lumière solaire. Au bout de trois jours, les prothalles étaient desséchés et ridés, les réserves amylacées avaient diminué des trois quarts au moins ; c'est à peine si l'on apercevait, après coloration, quelques points bleus épars à l'intérieur des cellules. Mais ces prothalles replacés dans des conditions favorables, ont pu, en quelques heures, reprendre leur forme primitive et passer de l'état de vie ralentie à celui de vie active : deux jours ont suffi à la formation de nouvelles réserves amylacées.

Enfin il est à noter que l'acide carbonique décomposé par la chlorophylle n'est pas la seule source possible d'amidon des prothalles. Certains composés organiques dans lesquels le carbone est déjà combiné à l'hydrogène et à l'oxygène peuvent, dans une

certaine mesure, jouer le même rôle. Ici intervient l'influence de l'alimentation sur l'amylogénèse.

Si les radicaux nécessaires à la production de l'amidon sont fournis dans les conditions normales, par la photosynthèse, ils peuvent également l'être sous forme de corps carbonés dérivés, et, dans ce cas, le concours de la lumière n'est pas indispensable.

La production de l'amidon à l'obscurité aux dépens des sucres a été depuis longtemps établie pour les Phanérogames et pour de nombreuses Cryptogames. Les prothalles ne font pas exception à cette loi. Nos expériences ont porté sur les prothalles d'*Aspidium falcatum*, *Pteris cretica*, et *Polystichum Oreopteris*. Après exposition à l'obscurité pendant quinze jours, ces prothalles, presque complètement décolorés et désamidonnés, ont été placés dans une solution de glucose à 10 % et laissés à l'abri de la lumière. Examinés cinq jours après, ces prothalles avaient déjà reformé leurs réserves amylacées sans l'intervention de la chlorophylle à peu près totalement disparue.

Tous les prothalles ne forment pas avec la même rapidité de l'amidon aux dépens des matières organiques. Les espèces qui présentent la formation la plus rapide sont celles qui normalement sont le plus riches en amidon ; pour les autres, il faut employer des solutions d'une concentration plus forte et laisser agir plus longtemps.

Ainsi, tandis que le prothalle de *Pteris cretica* reforme ses réserves en trois jours sur une solution sucrée à 10 %, le prothalle de *Polystichum Oreopteris* demande cinq jours et celui d'*Aspidium falcatum* sept jours environ avec la même solution ; si la solution est à 15 %, les temps respectifs sont réduits de vingt-quatre heures. C'est ce qui explique que les matières sucrées, doivent entrer dans les liqueurs nutritives employées pour la culture des prothalles. Ceux-ci se développant à une obscurité relative doivent trouver dans leur alimentation une nouvelle source d'amidon, sans avoir besoin d'une lumière, souvent trop faible, pour produire ce corps aux dépens des substances minérales.

C'est déjà ce qu'avait remarqué M. Marcel GROUT dans ses cultures du laboratoire de botanique de la Sorbonne.

Toutefois l'accumulation des matières amylacées dans les cellules

prothalliennes ne doit pas être exagérée, car elle nuirait au développement des chloroplastes et pourrait ralentir et même suspendre l'assimilation chlorophyllienne. C'est ce qui arrive avec les prothalles de *Pteris cretica* cultivés à la lumière dans une solution très riche en glucose. La quantité de matière sucrée doit être, dans les liqueurs nutritives, en raison inverse de la quantité de lumière reçue par les prothalles.

Cependant, lorsque ces liqueurs sont également riches en nitrates, l'accumulation des réserves amylacées ne se produit pas dans les prothalles ; la chlorophylle persiste et la végétation est activée. Il est probable, comme l'a montré PALLADINE (1), que les nitrates peuvent entrer en combinaison avec les hydrates de carbone pour réaliser la synthèse des matières albuminoïdes ; de sorte que la pénétration des composés azotés dans les cellules prothalliennes, détermine l'utilisation des grains d'amidon en réserve.

L'assimilation chlorophyllienne est donc activée par l'apport de nitrates qui augmentent la proportion de chlorophylle en faisant disparaître l'excès d'amidon. Ainsi semblent s'expliquer les médiocres résultats donnés par les cultures dans la liqueur de DETMER trop peu riche en nitrates et dépourvue de matières sucrées. Pour les mêmes raisons, la liqueur de KNOPP qui ne renferme pas d'azote, convient moins bien encore pour les cultures de prothalles ; on s'explique facilement, au contraire, depuis les travaux de PALLADINE, l'excellence des résultats donnés par la liqueur de SACHS enrichie en nitrates.

L'addition de glucose à cette liqueur est justifiée par le peu de lumière que demande le développement normal des prothalles, l'amidon pouvant se former aux dépens du sucre, même à l'obscurité complète.

En résumé, si les réserves amylacées ne sont pas très abondantes dans les prothalles lorsque ceux-ci sont exposés à une lumière faible ou se développent sur milieu non sucré, ces réserves par contre disparaissent lentement, à l'inverse de ce qui se passe chez les Phanérogames. Elles sont généralement en assez

(1) Pallatine : *Influence de la lumière sur la formation des substances azotées dans le règne végétal*. (C. R. de l'Acad. des Sciences. 1899.)

grande quantité pour subvenir aux premiers besoins de la jeune fronde qui, grâce à une croissance rapide des organes végétatifs, peut de bonne heure se suffire à elle-même.

Les prothalles de Polypodiacées obéissent donc, d'une façon générale, aux mêmes lois que celles qui régissent la production et les fluctuations de l'amidon chez les autres végétaux à chlorophylle.

CHAPITRE VII

ABSORPTION PAR LES RHIZOÏDES DES PROTHALLES DE POLYFODIACÉES

L'absorption est intéressante à étudier chez les prothalles, car elle permet d'apporter un certain nombre de faits qui peuvent contribuer à élucider le mécanisme des échanges liquides de cellule à cellule.

Les rhizoïdes sont en effet formés par une file de cellules à parois minces et à fin réseau protoplasmique renfermant, dans ses mailles, le suc cellulaire.

Dès qu'on plonge ces rhizoïdes dans une solution alcoolique étendue, de basse tension superficielle, on voit des vésicules claires se former à l'intérieur de la cellule. Peu à peu, elles augmentent de volume, prennent une forme ovoïde, font hernie par endroits, et ne tardent pas à se fusionner, de façon à former dans la cellule un certain nombre de vacuoles de dimensions variées. Ces vacuoles repoussent et compriment le protoplasme cellulaire, dilatent la membrane en tous sens, de telle sorte que la cellule complètement déformée, bombe de tous côtés, et devient turgescente.

Le même phénomène s'observe quand on place le prothalle pourvu de ses rhizoïdes dans une solution minérale, dont on a abaissé la tension superficielle par l'addition d'alcool, de savon ou de sels biliaires, corps qui sont, par excellence, des facteurs d'abaissement.

Si, au contraire, des prothalles sont placés dans des liquides

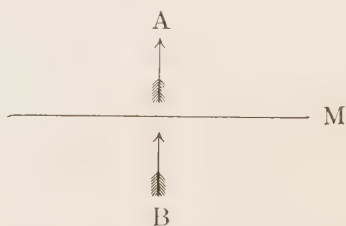
salés, à haute tension superficielle, on ne tarde pas à constater qu'au lieu d'y avoir absorption, il y a concentration du réseau protoplasmique et attraction du suc cellulaire au dehors de la membrane ; celle-ci se ride, les cellules diminuent de volume et perdent leur turgescence.

Mais il est à remarquer que, si à la solution salée on ajoute un peu d'alcool, de manière à abaisser sa tension superficielle, les phénomènes du début se reproduisent.

Dans le premier cas, il semble donc qu'il y a eu passage du liquide extérieur à travers la membrane cellulaire, d'où augmentation de turgescence, tandis que dans le deuxième, il y a production du phénomène inverse.

Quelles sont les raisons de ces phénomènes ? De nombreuses théories ont été données, ce qui montre que ces phénomènes sont complexes et que plusieurs facteurs doivent entrer en jeu. Aussi, serait-il imprudent de vouloir appliquer dans toute leur rigueur les lois physiques à de tels phénomènes biologiques. Il n'en est pas moins vrai, que la théorie de TRAUBE (1), développée dans le Journal de Chimie physique de l'année 1905, permet, dans une certaine mesure, d'interpréter la plupart de ces résultats.

Soit M une membrane, A et B deux liquides de tension superficielle et par conséquent de pression interne différentes. Si la tension de A est supérieure à la tension de B, d'après TRAUBE, B seul traversera la membrane.



La différence des tensions superficielles détermine donc d'après lui la direction et la vitesse de l'osmose.

Or, la pression osmotique et la pression de surface sont deux forces absolument distinctes.

Traube : *Osmose, diffusion et tension superficielle*. (Journal de Chimie physique, t. III. 1905.)

Si, en effet, un même nombre d'ions ou de molécules a toujours le même effet sur la première, ce n'est nullement le cas pour la seconde.

Lorsqu'avec une même paroi semi-perméable, nous séparons de l'eau, d'une solution de sucre A et d'une solution d'alcool B, dans le premier cas, l'eau passe à travers la paroi dans la solution sucrée, jusqu'à ce qu'une pression osmotique moyenne se soit établie; dans le second cas, c'est l'alcool qui passe à travers la paroi et il ne saurait être question, en la circonstance, de pression osmotique.

L'établissement de la pression osmotique et la vitesse avec laquelle elle s'effectue, semblent donc, d'après TRAUBE, ne dépendre que de la tension superficielle.

Dans ces conditions, le terme de membrane semi-perméable pour les solutions aqueuses de sels, ne l'est plus, pour les solutions aqueuses d'alcool ou d'éther. De même, une membrane peut ne pas laisser passer un sel, comme le chlorure de sodium, et lui devenir perméable dès qu'à la solution de ce sel, on ajoute un corps comme l'alcool, qui abaisse considérablement la tension superficielle.

En définitive, d'après la théorie de TRAUBE, la vitesse de l'osmose et l'état d'équilibre qui dépend de celle-ci, est surtout fonction de la différence des tensions superficielles des liquides en présence. Cette théorie si séduisante, éclaire d'un jour tout nouveau, nombre de phénomènes physiologiques comme nous l'avons montré dans plusieurs communications à la Société de Biologie et au Congrès de l'Association française pour l'avancement des Sciences, en 1908.

En particulier, elle permet d'expliquer les phénomènes de plasmolyse étudiés par DE VRIES. On sait que l'eau à la température de 15° exerce une pression de 7^{ms} 50 par unité de surface. De nombreuses expériences faites pour notre thèse de médecine (*Relations entre la tension superficielle des urines et leur toxicité*) nous ont permis d'établir que la plupart des sels minéraux dissouts dans l'eau élèvent la tension superficielle, à l'inverse des manières organiques qui, en grande majorité, sont des facteurs d'abaissement.

On peut, avec les rhizoïdes de prothalles répéter les expé-

riences faites par DE VRIËS sur la plasmolyse, pour évaluer approximativement la tension superficielle de leur suc cellulaire.

Si, sur le porte-objet du microscope, on mouille des rhizoïdes, avec la solution aqueuse d'un sel à 0 gr. 1, 0 gr. 2, 0 gr. 3, p. 100, les cellules prennent de l'eau aux solutions les plus étendues ; on les voit se gonfler et devenir turgescences, tandis qu'elles se contractent, au contraire, pour les solutions d'un rang plus élevé de la série, auxquelles elles cèdent de l'eau ; la concentration pour laquelle il n'y aura aucune variation de turgescence, sera à la même pression de surface que le suc cellulaire du rhizoïde.

On constate que, pour les rhizoïdes des prothalles de Polypodiacées, l'égalité de pression de surface est obtenue avec des solutions de tension superficielle voisine de 7^{me} 55, correspondant à des concentrations de :

Azotate de potassium	1 gr.	pour 100,
Chlorure de sodium	0 gr. 57	—
Sulfate de potassium	1 gr. 10	—
Sulfate de magnésie	1 gr. 75	

Si l'on compare ces concentrations, aux coefficients isotoniques trouvés par DE VRIËS et HAMBURGER, on constate qu'elles sont légèrement moins élevées.

Les solutions dont la tension de surface est trop différente de 7^{me} 55 ne conviennent pas pour la culture des prothalles.

Avec celles qui ont une tension moindre, l'absorption est rapide, mais le liquide absorbé étant à une tension inférieure à celle du suc cellulaire dilue celui-ci ; les éléments du noyau ne sont plus dans leur milieu ordinaire, et leur activité diminue ; tels les globules rouges qui laissent échapper leur hématine et meurent, lorsqu'ils ne sont plus dans un liquide de tension superficielle égale à celle du sérum sanguin.

C'est ainsi qu'on peut expliquer que les jeunes cellules prothalliennes, issues de la spore en germination dans l'eau, doivent rester à l'état embryonnaire sans pouvoir se développer, leur noyau baignant dans un suc cellulaire de tension superficielle voisine de celle de l'eau.

Les nombreux expérimentateurs qui, à la suite de SACHS et KNOPP,

ont réalisé des cultures en milieu liquide, ont pu constater, comme nous l'avons fait pour les prothalles, que les plantes cultivées dans l'eau distillée ne prennent qu'un très faible développement; encore pour bon nombre de plantes, d'après les chiffres donnés par DE VRIËS, la tension de surface du suc cellulaire semble-t-elle légèrement supérieure à celle des rhizoïdes de prothalle.

L'étude précédente semble donc montrer qu'il ne suffit pas de donner à un prothalle les éléments indispensables à son développement; il faut encore que ces éléments soient à une concentration telle que la tension superficielle soit voisine de 7^{ms} 55, tension approximative de son suc cellulaire normal. A cette condition seulement, le noyau pourra conserver sa vitalité et se multiplier rapidement.

Si les prothalles croissent bien sur milieu organique, c'est que la plupart des matières employées (sucre, glucose) élèvent peu la tension superficielle des liquides: on peut, pour avoir une même pression de surface, augmenter la concentration, bien davantage qu'avec les substances minérales.

Dans le cas où l'on emploie des solutions minérales assez concentrées, il est indispensable, si l'on veut éviter la contraction du noyau et la dessiccation des cellules prothalliennes, de diminuer la pression de surface par une substance inactive, facteur d'abaissement.

En somme, d'après nos recherches, basées sur la théorie de TRAUBE, l'absorption serait facilitée par la faible tension de surface du milieu extérieur; mais, comme la pression interne de la cellule est facteur de celle du milieu externe comme l'ont déjà prouvé les travaux de STANGE et de VAN RYSSSELBERGHE (1), il s'en suit que, si la différence entre la tension du suc cellulaire interne et celle de ce milieu externe est trop grande, le noyau n'étant plus dans son élément ordinaire ne peut se diviser et la plante végète.

Le maximum de croissance correspondant au maximum de division du noyau semble être atteint, lorsque la tension superficielle du liquide nutritif est voisine de celle du suc cellulaire normal,

(1) Van Rysselberghe: *Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu*. (Bruxelles. 1899.)

tension évaluée approximativement pour les rhizoïdes de prothalles, à 7^{ms} 55. C'est, à peu de chose près, la tension superficielle de la liqueur de SACHS, modifiée comme nous l'avons indiqué au début, par l'addition de nitrate et de matière sucrée. Ainsi s'expliquent les excellents résultats obtenus avec cette liqueur qui, pour tous les prothalles, nous a donné de superbes cultures.

CHAPITRE VIII

TRANSPIRATION DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES

La culture des prothalles ne peut se faire, nous l'avons vu, que dans un milieu très humide ; plus l'état hygrométrique de l'air est élevé, meilleures sont les conditions de développement. Dans une atmosphère à saturation éloignée, les prothalles se dessèchent et meurent rapidement. La fécondation ne peut d'ailleurs s'effectuer que par l'intermédiaire de l'eau, ce qui, par suite, comporte un air saturé.

La transpiration, au sens propre du mot, ne saurait donc exister. Les cellules prothalliennes étant toutes semblables ne montrent nulle trace de stomates, pas plus à la face inférieure qu'à la face supérieure.

Les feuilles de nombreuses Polypodiacées n'en sont d'ailleurs pourvues qu'en très petit nombre. Chez elles, la transpiration est faible ; l'émission de l'eau se fait surtout à travers certaines cellules épidermiques de régions déterminées.

Ces cellules diffèrent de leurs voisines, par leur forme et leur grandeur et ont une cuticule très mince rappelant en partie celle que l'on trouve dans les cellules aquifères des feuilles d'*Arundo*. Au lieu d'être situées à la face inférieure des feuilles, déjà occupée par les sores, elles sont placées à la face supérieure et, en général, directement au-dessus des groupes de sporanges, comme on peut le voir dans *Polypodium vulgare*. HABERLANDT (1) a donné à ces

(1) Haberlandt : *Zur Kenntniss der Hydathoden*. (Jahrb. wiss. Bot. 1897.)

organes de sudation le nom d'*hydatodes*; ils permettent, chez les Fougères, la circulation des liquides nutritifs en l'absence de toute transpiration.

L'émission de l'eau se fait donc à l'état liquide. Il en est de même chez les prothalles. Toutefois, dans ce cas, l'émission ne se fait pas par des cellules déterminées, mais par presque toutes les cellules indistinctement.

Les membranes de ces cellules sont généralement minces, dépourvues de cuticule et facilement perméables à l'humidité. Il est facile de le constater en plaçant un prothalle à demi-desséché dans une atmosphère saturée; les cellules ne tardent pas à se gonfler et à devenir turgescents. L'émission de l'eau se fait toujours par sudation, aussi bien à la face supérieure qu'à la face inférieure, comme on peut le vérifier en soumettant les deux faces du prothalle au papier sensible à la vapeur d'eau. A la face inférieure, l'eau suinte surtout en abondance vers les cellules du pied en partie désagrégées; ces cellules semblent établir une communication directe entre les liquides de l'intérieur et de l'extérieur.

Au contraire, les cellules de la face supérieure laissent transsuder l'eau, surtout vers le milieu, car c'est en ce point que la membrane est particulièrement mince et perméable; les gouttelettes formées ont la grosseur de têtes d'épingle, et sont d'autant plus volumineuses qu'elles sont plus rapprochées de la périphérie des ailes prothalliennes. Lorsqu'elles sont trop volumineuses, elles abandonnent la cellule, se fusionnent aux voisines, et forment une large goutte qui, glissant sur les ailes prothalliennes légèrement relevées, tombe vers l'échancrure du cœur. De la sorte, la partie médiane du prothalle est presque toujours recouverte d'eau, ce qui n'est pas sans favoriser la fécondation. Il est à remarquer que, contrairement à ce qui se passe chez les feuilles où la transpiration est intimement liée à l'assimilation chlorophyllienne, chez les prothalles, la transpiration est d'autant plus abondante que les cellules ont moins de chlorophylle. Ainsi, les cellules de la périphérie, généralement peu vertes, transpirent davantage que celles du centre, bourrées de grains chlorophylliens. Peut-être la cause, se trouve-t-elle dans la disposition des chloroplastes sur le pourtour de la cellule, ceux-ci doublant la membrane d'une nouvelle enveloppe moins perméable à l'humidité.

Dans tous les cas, des expériences faites avec les prothalles de *Pteris cretica*, placés à l'obscurité, nous ont montré clairement que la sudation se fait d'autant mieux que la cellule a moins de chlorophylle.

Les chloroplastes ont, en effet, commencé à disparaître des cellules de la périphérie vers le huitième jour d'obscurité, là où ils étaient moins nombreux au début. Et, au fur et à mesure que les cellules perdaient leur couleur verte, on pouvait remarquer qu'elles étaient recouvertes de gouttelettes plus grosses et plus rapidement formées ; si bien que, lorsque la chlorophylle eut disparu dans les trois quarts de la surface du prothalle, on avait un ensemble de gouttelettes de volume régulièrement croissant, en partant du centre pour aller à la périphérie.

Ce phénomène peut d'ailleurs s'expliquer assez facilement. Avec les feuilles de Phanérogames si la valeur de la transpiration dépend de l'assimilation chlorophyllienne, c'est que celle-ci est elle-même sous l'influence de la lumière ; entre ces deux fonctions il y a une corrélation étroite.

Cette corrélation disparaît en partie lorsqu'il s'agit, non plus de transpiration proprement dite, mais d'émission d'eau à l'état liquide comme c'est le cas pour les prothalles. Bien mieux, les grains chlorophylliens diminuant de nombre, vu leur disposition à la périphérie de la cellule, la membrane devient plus perméable et par suite l'émission de l'eau est facilitée. Nous avons essayé d'évaluer la transpiration chez les prothalles par pesées successives. Pour cela nous avons placé un gramme de prothalles sur le plateau d'une balance de précision, et, après avoir rétabli l'équilibre, nous avons constaté, au bout de trois heures de séjour à l'air, que cet équilibre était rompu.

Les poids à ajouter pour rétablir l'équilibre représentent donc l'eau perdue : ces poids sont les suivants pour les prothalles soumis à cette expérience :

<i>Aspidium falcatum</i>	0 gr. 095
<i>Blechnum Spicant</i>	0 gr. 090
<i>Ceterach officinarum</i>	0 gr. 105
<i>Cystopteris fragilis</i>	0 gr. 085
<i>Polypodium vulgare</i>	0 gr. 070

<i>Pteris cretica</i>	0 gr. 105
<i>Pteris aquilina</i>	0 gr. 095
<i>Scolopendrium officinale</i>	0 gr. 090

Pour établir une comparaison entre la transpiration des prothalles, nous avons pris la précaution de fermer la cage de la balance et de placer à l'intérieur du chlorure de calcium pour dessécher l'air et rendre les résultats indépendants de l'état hygrométrique extérieur. Toutefois, on ne peut trop faire état de ces chiffres pour avoir une idée de la valeur absolue de la transpiration des prothalles, car il est évident que, placés à l'air sec, ces prothalles sont dans des conditions tout à fait anormales, de sorte que l'émission d'eau est toute différente de ce qu'elle doit être en réalité dans la nature où l'atmosphère est plus ou moins saturée d'humidité.

Néanmoins, faisant abstraction des chiffres en eux-mêmes et ne tenant compte que de leur valeur relative, on peut admettre qu'ils traduisent assez bien la réalité, puisqu'ils montrent que la transpiration est proportionnelle à la surface prothallienne.

C'est, en effet, avec les prothalles à ailes larges et relevées en cornet que les chiffres ci-dessus indiquent la plus grande sudation. Ce n'est d'ailleurs là qu'un fait de plus à l'appui de la loi générale de la transpiration.

CHAPITRE IX

RESPIRATION DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES

Les prothalles comme toutes les plantes, respirent, c'est-à-dire absorbent de l'oxygène et rejettent de l'acide carbonique.

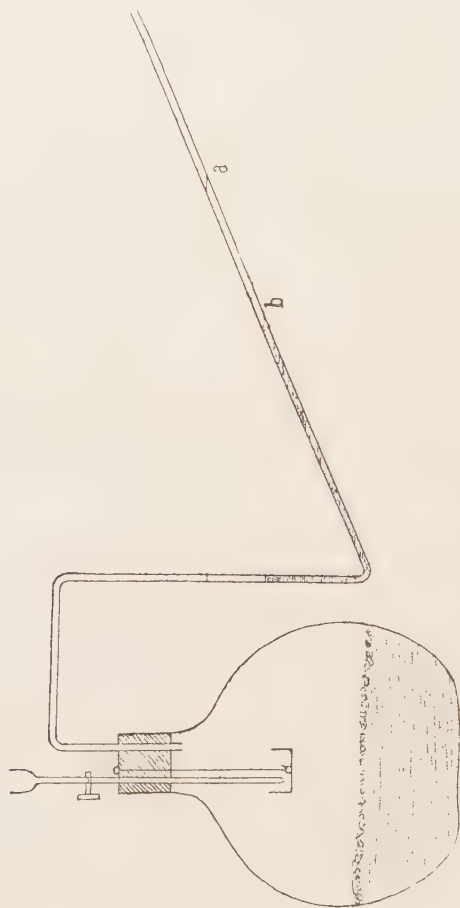
On peut mettre cette propriété en évidence à l'aide d'un appareil très simple, qui n'est qu'une modification de l'appareil décrit par BONNIER et MANGIN dans les *Annales des Sciences naturelles*. On prend un ballon à col large et court, dans lequel on fait une culture de prothalles sur liqueur de SACHS, à laquelle on ajoute un gramme d'azotate de potassium et deux grammes de glucose.

Ce liquide nutritif, riche en matières minérale et organique, est destiné à donner des prothalles à appareil végétatif très développé. Il est rendu semi-fluide par addition de gélose à un pour cent.

Les spores sont semées comme d'ordinaire, après stérilisation des frondes et du ballon, et le col de celui-ci est recouvert de coton hydrophyle passé à l'étuve à 100°. Sur le coton, repose un capuchon en verre.

Lorsque les spores commencent à germer, et qu'on veut étudier la respiration, on enlève délicatement, à l'air libre, le capuchon et le coton qui ferment le goulot du ballon et on les remplace par un bouchon de caoutchouc stérilisé, percé de trois trous. Dans le premier, passe un tube à entonnoir muni d'un robinet à gouttes. Dans le deuxième, on met un fil de fer, maintenant suspendu dans le

ballon, un petit réservoir situé juste au-dessous du tube à entonnoir. Enfin, dans le troisième trou, est un tube manométrique. Ce tube est disposé de manière que l'appareil soit d'une très grande sensibilité. La branche droite, en effet, au lieu d'être recourbée



verticalement, est fortement inclinée sur la branche gauche comme l'indique la figure ci-dessus, de telle manière, qu'un tout petit déplacement de liquide à gauche se manifeste sur une grande longueur à droite.

Le liquide à employer ne saurait être le mercure à cause de sa

grande densité, car la respiration des prothalles étant peu active ne pourrait pas, vu le peu de durée des expériences, amener une différence de niveau appréciable dans les deux branches.

Il est également impossible de prendre l'eau, à cause de sa trop facile évaporation.

Le liquide qui nous a donné les meilleurs résultats, est l'huile blanche ; sa densité, 0, 87, est faible, de sorte que les différences de pression sont très marquées ; son évaporation est nulle et son adhérence au verre très légère.

Pour mesurer les échanges gazeux causés par la respiration, nous avons placé l'appareil ainsi monté dans une chambre noire où l'obscurité était complète ; de la sorte, nous n'avions pas à craindre le dégagement d'oxygène produit par l'assimilation chlorophyllienne. Mais, comme l'air du ballon pouvait déjà renfermer une certaine quantité d'acide carbonique, il était nécessaire de le renouveler et de le remplacer par de l'air stérilisé. Pour cela, nous adaptions à l'extrémité libre du manomètre, un tube en caoutchouc, communiquant avec un grand flacon plein d'air chauffé primitivement à 100° ; l'air du flacon, déplacé par de l'eau bouillie, passait dans le ballon à culture et sortait par le tube à entonnoir dont on avait ouvert le robinet.

L'huile était ensuite versée par l'ouverture extérieure du tube manométrique avec un entonnoir effilé ; de cette façon, toutes les précautions étaient prises pour avoir de l'air pur et stérilisé à l'intérieur du ballon.

Le robinet du tube à entonnoir n'était fermé qu'au moment de la mise en marche de l'expérience ; de la sorte, la pression était la même à l'intérieur du ballon qu'à l'extérieur, ce qu'il était facile de vérifier en constatant que le niveau de l'huile dans les deux branches du manomètre était sur un plan horizontal.

Nos expériences ont duré vingt-quatre heures chacune ; nous aurions voulu les prolonger pour avoir des résultats plus concluants, mais nous avions à craindre la destruction partielle de la vitalité des prothalles par une exposition trop longue à l'obscurité.

L'absorption d'oxygène par la respiration, entraînait à l'intérieur du ballon, une diminution de pression non compensée en totalité par le dégagement d'acide carbonique. Lorsque la pression atmosphérique était la même qu'au début, on pouvait dans tous les

cas constater, à la fin de l'expérience, une différence de niveau du liquide dans les deux branches du manomètre, laquelle traduisait la diminution de pression.

Cette différence, très peu sensible pendant les premiers développements du prothalle, s'accroît par la suite ; mais elle est assez variable suivant les espèces. Comme elle est généralement très faible, il aurait fallu un cathétomètre pour l'évaluer avec exactitude. Aussi, nous sommes-nous contenté de la mesurer par le déplacement du liquide dans la branche droite, déplacement amplifié par suite de l'inclinaison de cette branche sur la verticale.

À la fin de l'expérience, l'air du ballon contient l'acide carbonique dégagé pendant la respiration. À ce moment, nous laissons tomber par le tube à robinet une certaine quantité d'une solution de potasse à 1 pour 100 ; ce liquide, arrivant goutte à goutte dans le godet situé au-dessous, absorbe le gaz carbonique du ballon et amène, en quelques instants, une diminution de pression à l'intérieur. Le niveau de l'huile baisse à droite, traduisant ainsi la différence de pression avant et après l'introduction de la potasse.

L'expérience terminée, le col du ballon est de nouveau fermé par du coton hydrophile, recouvert par un capuchon de verre et la culture est reportée à la serre.

Quelques jours après, on recommence la même expérience pour avoir l'intensité respiratoire aux diverses phases du développement du prothalle.

Nous avons opéré sur six cultures marchant de front, ce qui nous a permis d'établir quelques comparaisons.

Remarquons que, pour un seul ballon, des germes ont été introduits, ce que nous avons reconnu au trouble du milieu nutritif et à la grande activité respiratoire, due en majeure partie aux moisissures qui s'étaient développées à l'intérieur.

Les résultats de nos expériences sont consignés dans les tableaux ci-après : les chiffres de la première colonne indiquent le déplacement du niveau de l'huile dans la branche droite, ce déplacement étant mesuré suivant l'inclinaison du tube, le ballon renfermant encore le gaz carbonique ; les chiffres de la seconde colonne indiquent le déplacement, après absorption du gaz carbo-

nique par la potasse. Tous les résultats sont exprimés en millimètres.

Expériences faites pendant la germination des spores

(Vingt jours après semis).

<i>Aspidium falcatum</i>	1	4
<i>Blechnum Spicant</i>	2	6
<i>Polypodium vulgare.</i>	2	6 $\frac{1}{2}$
<i>Polystichum Oreopteris.</i>	1 $\frac{1}{2}$	4
<i>Pteris cretica</i>	1 $\frac{1}{2}$	5

Expériences faites pendant le développement des Prothalles

(Quarante jours après semis).

<i>Aspidium falcatum</i>	2 $\frac{1}{2}$	7
<i>Blechnum Spicant</i>	3	11
<i>Polypodium vulgare.</i>	2 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$
<i>Polystichum Oreopteris.</i>	2 $\frac{1}{2}$	9 $\frac{1}{2}$
<i>Pteris cretica</i>	3	8 $\frac{1}{2}$

Expériences faites pendant la formation des organes reproducteurs

(Soixante-dix jours après semis).

<i>Aspidium falcatum</i>	5 $\frac{1}{2}$	18
<i>Blechnum Spicant</i>	5 $\frac{1}{2}$	21
<i>Polypodium vulgare.</i>	6	19
<i>Polystichum Oreopteris.</i>	7	20
<i>Pteris cretica</i>	6 $\frac{1}{2}$	19

Expériences faites pendant la fructification

(Trois mois après semis).

<i>Aspidium falcatum</i>	5 $\frac{1}{2}$	19
<i>Blechnum Spicant</i>	6 $\frac{1}{2}$	27
<i>Polypodium vulgare</i>	7	26
<i>Polystichum Oreopteris</i>	6	23
<i>Pteris cretica</i>	10	35

Nous avons arrêté là nos expériences.

Ces chiffres montrent d'abord que, dans tous les cas, la valeur du rapport $\frac{CO^2}{O}$ est plus petit que l'unité, puisque l'acide carbonique rejeté est toujours en plus petite quantité que l'oxygène absorbé.

La valeur relative de l'oxygène absorbé est donnée par les chiffres de la première colonne. La plus grande valeur trouvée correspond au prothalle de *Pteris cretica*, qui a surtout une respiration active au moment de la fructification. C'est d'ailleurs ce que HANSEN (1) avait déjà montré à propos des Champignons en prouvant que, pour la formation des spores, il fallait une plus grande quantité d'oxygène.

KLEBS avait également remarqué que, dans les cultures de Mucorinées, les spores se forment d'autant mieux que l'air se renouvelle plus souvent ; une légère aération aide donc à la fructification par son apport d'oxygène.

Mais, fait à signaler, les spores de Polypodiacées en germination, à l'inverse des graines de Phanérogames, ont une respiration peu active. Cette intensité respiratoire va croissant jusqu'au moment de la fructification des prothalles, et, est d'autant plus manifeste que la surface des ailes est plus développée. C'est, en effet, avec *Pteris cretica*, à appareil végétatif large et étalé, que nous avons le plus fort dégagement de gaz carbonique.

Cette méthode, bien que très sensible, est fort imparfaite, car

(1) Seliber : *Loc. cit.*

elle ne comporte pas des comparaisons bien exactes. Si elle nous permet d'établir avec certitude que, dans tous les cas, la valeur du rapport $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}}$ est plus petite que l'unité, elle ne nous permet pas, par contre, d'établir des conclusions précises sur l'activité respiratoire d'une même quantité de prothalles. Les cultures ne donnent pas toutes les mêmes résultats : telle culture est riche en prothalles, telle autre est plus pauvre. D'autre part, les expériences devant se prolonger un certain temps pour donner des résultats sensibles, il faut tenir compte des changements de pression et de température qui modifient les chiffres trouvés.

Il fallait donc pour compléter cette étude, employer la méthode de l'air confiné, méthode rapide et pratique, généralement adoptée lorsqu'on possède l'appareil de BONNIER et MANGIN, pour l'analyse des gaz.

Nos expériences ont été faites avec des éprouvettes graduées ; les prothalles étaient débarrassés de leurs rhizoïdes et placés, après pesée, à l'intérieur des éprouvettes dans lesquelles on avait mis du mercure, isolant un volume d'air de 10^{cc}.

La transpiration des prothalles suffit à donner une quantité d'eau suffisante pour empêcher la formation de vapeurs mercurielles toxiques.

Dès le début de l'expérience jusqu'à la fin, les éprouvettes étaient recouvertes d'un manchon noir les plongeant dans une obscurité complète. Pour plus de sûreté, elles étaient placées dans un placard fermant hermétiquement. La durée des expériences était de douze heures ; ces expériences s'effectuaient la nuit, de sept heures du soir à sept heures du matin.

Le poids des prothalles employés était de un gramme ; nous avons tenu compte du volume occupé par les prothalles en cherchant leur densité par la méthode du flacon, densité que nous avons trouvé être approximativement de : 1,07.

Au bout de douze heures, une prise de gaz était faite après brassage et la pression ainsi que la température initiale et finale du laboratoire notées ; la proportion d'oxygène absorbé et de gaz carbonique dégagé était calculée avec l'appareil de BONNIER et MANGIN. A l'aide de ces données, il était facile de déterminer la quantité

d'oxygène absorbé et de gaz carbonique dégagé par un gramme de prothalles respirant à l'obscurité pendant une heure.

En opérant sur les mêmes prothalles que précédemment, prothalles récoltés après développement complet, c'est-à-dire deux mois après semis, nous avons obtenu les résultats ci-après, exprimés en millimètres cubes :

	O	CO ²	$\frac{\text{CO}^2}{\text{O}}$
<i>Aspidium falcatum</i> . . .	28	25	0,89
<i>Blechnum Spicant</i> . . .	51	42	0,82
<i>Polypodium vulgare</i> . . .	62	52	0,84
<i>Polystichum Oreopteris</i> . .	51	44	0,86
<i>Pteris cretica</i>	70	64	0,90

Nous avons répété ces expériences avec ces mêmes prothalles récoltés au moment de la fructification, c'est-à-dire trois mois après semis, quelques frondes faisant déjà leur apparition. Nous avons obtenu des résultats peu différents :

	O	CO ²	$\frac{\text{CO}^2}{\text{O}}$
<i>Aspidium falcatum</i> . . .	33	28	0,85
<i>Blechnum Spicant</i>	51	43	0,82
<i>Polypodium vulgare</i> . . .	65	53	0,81
<i>Polystichum Oreopteris</i> . .	57	48	0,84
<i>Pteris cretica</i>	84	73	0,87

Ces résultats confirment, en partie, ceux que nous avait donné la première méthode, à savoir que le rapport $\frac{\text{CO}^2}{\text{O}}$ est toujours plus petit que l'unité et que l'intensité respiratoire est d'autant plus active que les ailes prothalliennes sont plus développées.

Nous pouvons en outre déduire de ces résultats que la valeur du rapport $\frac{\text{CO}^2}{\text{O}}$ augmente et tend à se rapprocher de l'unité à mesure que le prothalle avance en âge.

En résumé, à l'obscurité, le volume de gaz carbonique produit par les prothalles est toujours plus petit que le volume d'oxygène absorbé. Les prothalles assimilent donc de l'oxygène en l'absence de la lumière.

Pour toutes les espèces étudiées, le rapport $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}}$ du gaz carbonique dégagé, à l'oxygène absorbé, a toujours été compris entre 0.81 et 0.90 ; il se rapproche d'autant plus de l'unité que le prothalle est plus âgé.

CHAPITRE X

ASSIMILATION CHLOROPHYLLIENNE DES PROTHALLES DE POLYPODIACÉES

Les plantes vertes exposées à la lumière, puisent dans l'air, l'acide carbonique qu'elles décomposent, dégagent l'oxygène et fixent le carbone dans leurs tissus.

L'assimilation l'emporte presque toujours sur la respiration, qui a lieu à la lumière comme à l'obscurité et détermine des échanges gazeux inverses. Toutefois, lorsque la température est assez élevée, la respiration peut prédominer sur l'assimilation et, comme phénomène résultant, on constate une absorption d'oxygène et un dégagement d'anhydride carbonique.

La chlorophylle apparaît assez rapidement dans les prothalles, mais elle se distribue d'une façon très irrégulière, suivant les espèces. Dans tous les cas, elle n'est jamais répartie uniformément dans le protoplasma cellulaire ; elle est toujours localisée dans des corpuscules de forme polyédrique.

Dans le prothalle d'*Aspidium falcatum*, on commence à apercevoir quelques grains verdâtres peu de jours après la formation des deux ou trois premières cellules prothalliennes. Lorsque la culture est faite sur buvard, des tâches vertes annoncent cette apparition.

Dès que le prothalle grandit, les grains verts se multiplient, et sont toujours plus nombreux à la périphérie et dans les cellules

néoformées. Peu à peu les rhizoïdes se multiplient également, les cellules du pied augmentent de volume et le prothalle prend sa configuration définitive. A ce moment, les grains chlorophylliens, plus nombreux, emplissent d'autant plus les cellules prothalliennes que celles-ci sont plus voisines du centre. Sur les cellules des ailes, ces grains se disposent autour des membranes des faces latérales, laissant vers le milieu des cellules, le protoplasma directement en contact avec les membranes des faces supérieure et inférieure. Les prothalles étant, comme nous l'avons vu, dépourvus de stomates, c'est à travers ces membranes semi-perméables, que s'effectue la sudation.

La chlorophylle des prothalles semble peu différente de la chlorophylle des feuilles de Phanérogames.

Elle est constituée par un mélange de deux matières colorantes, l'une verte, l'autre jaune. La matière verte est soluble dans l'éther et l'alcool absolu; elle donne une solution d'un beau vert à la lumière solaire, d'un bleu rouge à la lumière diffuse; contrairement à l'extrait alcoolique de chlorophylle de feuilles, elle est peu stable et se décolore rapidement.

La matière jaune est soluble dans un grand nombre de liquides: alcool, éther, chloroforme. La lumière la transforme rapidement en une substance incolore; ses propriétés chimiques et spectrales permettent de l'identifier à la matière colorante des fleurs jaunes. Cette matière, si commune dans les feuilles de Phanérogames, ne se forme qu'en faible quantité dans les prothalles. Ceux-ci ne s'étiolent pas à l'abri de la lumière; ils n'ont jamais cette coloration jaunâtre des feuilles à l'automne. A l'obscurité, la chlorophylle disparaît lentement des chloroplastes, en commençant par la périphérie des ailes, pour gagner successivement le centre; les cellules prothalliennes deviennent translucides, montrent les chloroplastes décolorés et ne tardent pas à se résorber et mourir.

Il faut remarquer qu'en traitant les prothalles par de l'alcool à 60°, dissolvant ordinaire de la xanthophylle, on a une légère coloration jaune qui n'a rien de comparable avec la teinte obtenue en traitant des feuilles ordinaires par ce même dissolvant; si la liqueur verte obtenue avec de l'alcool à 95° n'est pas très stable et vire en quelques heures au jaune pâle, c'est parce que la matière

verte de la chlorophylle disparaît seule, laissant la matière jaune qui donne sa coloration à l'alcool.

Cette instabilité de la dissolution alcoolique de prothalle est à signaler; nous avons fait, pour nos recherches, un grand nombre de dissolutions de chlorophylle provenant de toutes sortes de feuilles, et aucune ne nous a fourni une telle instabilité. Aussi, doit-on examiner rapidement ces solutions au spectroscope, lorsqu'on veut en déterminer les spectres d'absorption.

Pour comparer la richesse en chlorophylle des prothalles, la méthode la plus simple serait la numération des grains chlorophylliens. Toutefois cette numération, employée par HABERLANDT, ne peut donner une idée exacte de la quantité de pigments verts, qu'à la condition que le volume des chloroleucites, ainsi que la concentration des pigments renfermés, soient identiques dans les prothalles à comparer. On comprend ainsi que cette méthode ne donne aucune certitude pour la comparaison quantitative des pigments.

La méthode la plus généralement adoptée consiste à faire une dissolution alcoolique d'un gramme de chacune de ces espèces de prothalles, ceux-ci étant réduits à la partie verte, dans vingt centimètres cubes d'alcool à 95°. On place les tubes à essais renfermant ces solutions devant un papier blanc et, par comparaison, on range les tubes d'après leur teinte.

Ce procédé nous permet de classer les espèces examinées dans l'ordre suivant, en partant des moins riches en chlorophylle avec *Aspidium falcatum*, pour arriver aux plus riches avec *Pteris cretica* :

1. *Aspidium falcatum*.
2. *Pteris aquilina*.
3. *Blechnum Spicant*.
4. *Cystopteris fragilis*.
5. *Ceterach officinarum*.
6. *Polypodium vulgare*.
7. *Polystichum Oreopteris*.
8. *Scolopendrium officinale*.
9. *Pteris cretica*.

Mais il ne suffit pas de comparer les teintes des dissolutions

alcooliques de chlorophylle pour avoir une notion exacte de l'assimilation chlorophyllienne. Telle dissolution ayant même teinte que telle autre ne donnera pas forcément le même spectre d'absorption. Les prothalles adaptés à un faible éclaircissement peuvent posséder un appareil chlorophyllien plus sensible et commencer la décomposition de l'anhydride carbonique à une intensité lumineuse minima plus faible que les plantes vertes croissant à une vive lumière.

Après avoir comparé les teintes des dissolutions alcooliques de chlorophylle des prothalles, il devient donc indispensable d'examiner leurs différents spectres d'absorption.

Ces spectres ont été établis avec des extraits d'un gramme de prothalle dans vingt centimètres cubes d'alcool; nous nous sommes servi de la cuve de LEYBOLD's de quatre millimètres de section.

Les spectres obtenus sont dessinés dans le tableau ci-contre où le spectre de l'extrait alcoolique de chlorophylle provenant de la feuille de *Tilia* a été mis pour comparaison. Comme on le voit :

Pour *Aspidium falcatum*, l'absorption est complète des raies 25 à 30 et elle est partielle de la raie 180 à la fin du spectre.

Pour *Blechnum Spicant*, l'absorption est complète des raies 20 à 26 et elle est partielle des raies 170 à la fin du spectre.

Pour *Polypodium vulgare*, l'absorption est complète des raies 18 à 29, et elle est partielle des raies 160 à la fin du spectre.

Pour *Polystichum Oreopteris*, l'absorption est complète des raies 15 à 28, et elle est partielle des raies 150 à la fin du spectre.

Pour *Pteris cretica*, l'absorption est complète des raies 18 à 32, et elle est partielle des raies 145 à la fin du spectre.

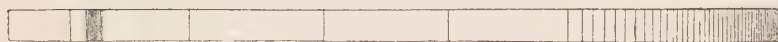
En résumé, nous devons constater que l'absorption, plus faible que chez les Phanérogames, est en relation avec la teinte des extraits alcooliques examinés précédemment.

Il restait comme vérification à examiner directement les échanges gazeux à la lumière. Cet examen procure en outre l'avantage de permettre d'établir des comparaisons plus précises entre l'assimilation des différentes espèces prothalliennes et de déduire, suivant l'intensité lumineuse, les variations de l'assimilation.

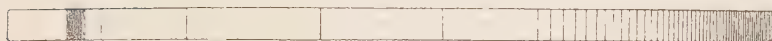
Toutes nos expériences ont été faites dans une atmosphère artificielle composée d'un mélange d'air et de gaz carbonique. Les



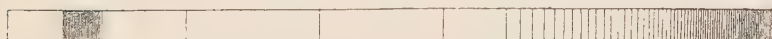
Aspidium falcatum



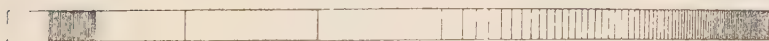
Blechnum Spicant



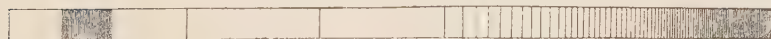
Polypodium vulgare



Polystichum Oreopteris



Pteris cretica



Tilia



éprouvettes graduées étaient placées sur de petits cristallisoirs contenant du mercure et limitant à dix centimètres cubes le volume de l'atmosphère.

A la température de 15 à 20 degrés, les parois des éprouvettes et la surface du mercure se couvrent, par suite de la sudation des prothalles, d'une mince couche d'eau ; il n'y a donc pas lieu d'en introduire dans les éprouvettes pour recouvrir la surface du mercure, comme on le fait généralement, afin de préserver les prothalles de l'influence nuisible des vapeurs mercurielles.

Pour les analyses à faire avant et après l'expérience, on transporte l'éprouvette elle-même sur la cuve de l'appareil BONNIER et MANGIN ; la prise de gaz est ainsi faite directement.

Nos expériences ont eu d'abord pour but de vérifier si le pouvoir assimilateur de quelques espèces de prothalles variait en raison directe du spectre d'absorption donné par les extraits alcooliques.

Pour cela, nous avons pris un même poids (un gramme) de chacun de ces prothalles dépouillés de leurs rhizoïdes et convenablement lavés, et nous les avons placés dans l'atmosphère artificielle des éprouvettes. L'acide carbonique était dans cette atmosphère à une bonne proportion pour l'assimilation des prothalles, c'est-à-dire à cinq pour cent environ.

Les expériences ont été faites pendant le même temps, aux mêmes heures, et autant, que cela nous a été possible, avec une lumière à peu près semblable.

Les éprouvettes ont été exposées de sept heures du matin à sept heures du soir dans le laboratoire, à une lumière diffuse assez intense, le laboratoire étant fortement éclairé.

Des éprouvettes semblables étaient placées à l'obscurité pendant le même temps pour avoir l'intensité respiratoire.

Nous avons suivi la méthode décrite par BONNIER et MANGIN (1), dans les Annales des Sciences Naturelles de 1886. Connaissant, pour un certain poids de prothalles, le volume *c* d'acide carbonique absorbé et le volume *o* d'oxygène dégagé par la résultante de la respiration et de l'assimilation chlorophyllienne superposées, puis

(1) Bonnier et Mangin : *L'action chlorophyllienne séparée de la respiration.* (An. Bot. t. III. 1886.)

le volume c' d'acide carbonique dégagé et le volume o' d'oxygène absorbé par la respiration, on en déduit facilement les échanges gazeux se rapportant à l'assimilation.

Les prothalles soumis à l'expérience ont dégagé par l'assimilation seule, la quantité o' d'oxygène immédiatement utilisée par la respiration, plus la quantité o d'oxygène trouvée en excès à la fin de l'expérience, soit :

$$O = o + o'$$

Par l'assimilation seule, les prothalles ont d'autre part absorbé, la quantité c' d'acide carbonique dégagé par la respiration, plus la quantité c disparue de l'atmosphère ambiante à la fin de l'expérience, soit :

$$C = c + c'$$

Le rapport

$$\frac{O}{C} = \frac{o + o'}{c + c'}$$

représente l'assimilation chlorophyllienne.

Ce rapport n'est qu'approché, car la respiration des végétaux est un peu différente à la lumière et à l'obscurité, mais l'erreur en la circonstance est négligeable.

Chaque espèce prothallienne permet donc d'établir trois rapports :

$$\frac{CO_2}{O} = r \quad \text{concerne la respiration.}$$

$$\frac{o}{c} = R \quad \text{concerne la résultante.}$$

$$\frac{O}{C} = a \quad \text{représente l'assimilation chlorophyllienne.}$$

Tous nos résultats ont été rapportés à un gramme de prothalles assimilant pendant une heure pour permettre d'établir des comparaisons.

Il résulte de ces expériences que les nombres trouvés correspondent approximativement aux spectres d'absorption et montrent clairement que, placés dans les mêmes conditions, l'assimilation

NOMS DES PROTHALLES	LUMIÈRE	Vol. en mill. cubes des gaz échangés par 1 gr. de prothalles en 1 h.						NOMBRES provenant de la comparaison de a et de b Assimilation chlorophyll.		VALEUR DE $\frac{O}{C}$
		(a) à la lumière. Résultante		(b) à l'obscurité. Respiration				O dégagé	$\frac{CO_2}{C}$	
		O dégagé	$\frac{CO_2}{C}$ absorbé	O absorbé	$\frac{CO_2}{C}$ dégagé	$\frac{CO_2}{C}$				
<i>Aspidium falcatum</i> ...	Ciel couvert..	12	38	30	28	0.81	66	72	1.09	
<i>Blechnum Spicant</i> ...	Soleil.....	63	58	56	48	0.85	106	119	1.12	
<i>Polypodium vulgare</i> ...	Soleil.....	80	63	68	59	0.86	122	148	1.20	
<i>Polystichum Oreopteris</i>	Ciel couvert..	69	51	54	46	0.85	97	123	1.26	
<i>Pteris cretica</i>	Soleil.....	143	97	78	71	0.91	168	221	1.31	

des prothalles est d'autant plus active qu'ils sont plus riches en chlorophylle.

Restait à se demander comment variait l'assimilation de ces prothalles aux différentes heures de la journée.

Les expériences faites en mars, commençaient au petit jour, c'est-à-dire à six heures du matin pour finir à la nuit, vers six heures du soir ; elles ont été faites avec des espèces de prothalles à assimilation très différente : *Aspidium Falcatum*, *Blechnum Spicant*, *Polypodium vulgare*, *Polystichum Oreopteris*, *Pteris cretica*.

Les analyses étant effectuées toutes les deux heures sur l'atmosphère de la même éprouvette, le volume de cette atmosphère variait chaque fois à cause des prises de gaz ; il nous était donné par les graduations des éprouvettes. Par différence, il nous était facile d'obtenir le volume d'oxygène en plus et d'acide carbonique en moins pendant les deux heures séparant chaque analyse. Les résultats ne sont pas d'une exactitude absolue à cause du temps pris par l'analyse, mais ils permettent néanmoins d'établir que l'assimilation chlorophyllienne, pour les prothalles, commence à une lumière diffuse très faible pour croître rapidement et atteindre un maximum correspondant au quart, environ, de l'insolation directe.

Les résultats de nos expériences rapportés à un gramme de prothalle assimilant pendant une heure (moyenne de deux heures) sont consignés dans le tableau ci-contre qui donne dans chaque cas la valeur de la résultante,

$$R = \frac{o}{c}$$

Cette résultante permet une comparaison suffisamment approchée de l'assimilation chlorophyllienne aux différentes heures de la journée.

En comparant ces résultats on peut remarquer que certains prothalles, comme ceux d'*Aspidium falcatum* et *Blechnum Spicant*, qui ont relativement peu de chlorophylle, commencent à assimiler plus vite que ceux de *Polystichum Oreopteris* et *Pteris cretica* qui en ont beaucoup plus ; par contre, l'assimilation totale est toujours moins considérable. Ces prothalles naturels étant

NOMS DES PROTHALLES	LUMIÈRE	HEURES DE LA JOURNÉE					
		6 - 8	8 - 10	10 - 12	12 - 2	2 - 4	4 - 6
<i>Aspidium falcatum</i> . . .	Soleil	1.11	1.14	1.18	1.16	1.15	1.14
<i>Blechnum Spicant</i> . . .	Ciel couvert	1.14	1.19	1.20	1.22	1.20	1.16
<i>Polypodium vulgare</i> . .	Soleil	1.26	1.34	1.40	1.35	1.37	1.28
<i>Polystichum Oreopteris</i>	Soleil	1.31	1.32	1.35	1.34	1.35	1.32
<i>Pteris cretica</i>	Soleil	1.42	1.40	1.41	1.43	1.42	1.37

recouverts par des Fougères très feuillées, peut-être faut-il voir là une sensibilité plus grande de l'appareil chlorophyllien.

Dans tous les cas, l'assimilation atteint son maximum à une lumière diffuse assez faible et reste à peu près constante pendant la plus grande partie de la journée.

Il est d'ailleurs à remarquer que, contrairement à ce qui se passe chez les Phanérogames, l'assimilation se fait plutôt moins bien chez les prothalles exposés au soleil et cela, d'autant plus, que les prothalles proviennent d'une Fougère plus feuillée.

Ainsi, après exposition simultanée au soleil et à l'ombre d'un gramme de prothalles des espèces précédentes, pendant quatre heures, nous avons obtenu les résultats suivants comme valeur de la résultante $\frac{O}{C}$ par gramme-heure.

Prothalles de :	Valeur de R. par G. H.	
	EXPOSITION	
	au soleil	à l'ombre
<i>Aspidium falcatum</i>	1.08	1.12
<i>Blechnum Spicant</i>	1.11	1.18
<i>Polypodium vulgare</i>	1.20	1.19
<i>Polystichum Oreopteris</i>	1.27	1.31
<i>Pteris cretica</i>	1.32	1.39

La lumière diffuse faible, convient donc mieux à l'assimilation prothallienne que l'insolation directe.

Par suite, les Fougères croissant généralement dans des endroits humides et ombragés, les prothalles recevraient donc assez de lumière pour assimiler le carbone, si cette lumière était de la lumière blanche n'ayant subi aucune décomposition. Mais cette lumière a déjà traversé les feuilles des arbres abritant les Fougères, et les frondes de la plante-mère avant d'arriver aux prothalles.

Est-elle encore de nature à assurer l'assimilation ? C'est la question à résoudre.

TIMIRIAZEFF (1) a montré que la lumière blanche qui a traversé une dissolution de chlorophylle est devenue incapable de provoquer dans les tissus verts le phénomène de l'assimilation, et cela quelle que soit l'intensité de la lumière incidente. Une telle lumière est, en effet, privée des radiations qui, emmagasinées par les grains de chlorophylle, sont la source de l'énergie nécessaire à la décomposition de l'acide carbonique.

Dans la nature, la lumière solaire qui frappe un prothalle n'a jamais traversé de solution de chlorophylle, mais elle a traversé au moins une ou plusieurs feuilles de la plante-mère.

Que devient, dans ce cas, l'assimilation chlorophyllienne ?

Entre une feuille et une dissolution de chlorophylle, il y a une grande différence ; dans la feuille, la matière verte n'est pas en solution ; elle est localisée dans les chloroleucites, lesquels sont inégalement distribués dans les cellules des feuilles de Fougères. Dans le tissu en palissade de la face supérieure, les chloroleucites sont surtout situés sur les parois latérales, de sorte que la lumière peut passer par le centre des cellules et atteindre facilement les parties profondes ; d'autre part, les feuilles de Polypodiées étant généralement très découpées, la lumière peut ainsi filtrer entre les dentelures.

Or, les différences entre le spectre d'une dissolution de chlorophylle et celui des feuilles de Fougères disparaissent, si l'on admet dans la fente du spectroscope, avec la lumière ayant traversé l'extrait alcoolique vert, un mélange de lumière blanche, afin d'imiter ce qui a lieu naturellement lorsque la lumière traverse une ou plusieurs feuilles de Fougères.

Toute la lumière, en effet, ne traverse pas forcément les feuilles ; celles-ci la réfléchissent et lui permettent d'arriver en partie au-dessous d'elles sur les prothalles existants.

Nous avons d'ailleurs tenu à comparer l'assimilation des prothalles exposés à la lumière diffuse à celle des mêmes prothalles

(1) Timiriazeff : *Sur la décomposition de l'acide carbonique par les parties vertes des végétaux*. (C. R. de l'Acad. des Sciences. 1877.)

dans leur situation naturelle, c'est-à-dire abrités par la plante-mère.

Pour cela nous nous sommes servi de Fougères de serre et nous avons placé les éprouvettes à expériences, préparées comme précédemment, les unes à la lumière diffuse, les autres au pied des Fougères-mères pendant six heures.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant où nous donnons la valeur de la résultante $\frac{O}{c}$ par gramme-heure.

Prothalles de :	Valeur de R. par G. H.	
	EXPOSITION	
	à la lumière diffuse	sous la plante-mère
<i>Aspidium falcatum</i>	1.15	1.10
<i>Blechnum Spicant</i>	1.19	1.13
<i>Polypodium vulgare</i>	1.29	1.19
<i>Polystichum Oreopteris</i>	1.32	1.15
<i>Pteris cretica</i>	1.38	1.32

Comme on le voit, il résulte du tableau ci-dessus que la différence d'assimilation entre les prothalles exposés à la lumière diffuse et les prothalles placés à l'ombre de la plante-mère n'est pas très considérable.

Donc, si le couvert des feuilles de Polypodiacées affaiblit le pouvoir des rayons solaires, il ne le détruit pas ; la lumière qui arrive aux prothalles, est non seulement de la lumière transmise, mais, en grande partie, de la lumière réfléchie ou diffuse, qui convient parfaitement en la circonstance, pour l'assimilation chlorophyllienne.

D'ailleurs, il est à remarquer, que dans les expériences du début, les prothalles sont placés, relativement au mélange gazeux, dans une situation peu différente de celle des prothalles naturels. L'atmosphère des éprouvettes, renferme un mélange ayant cinq pour cent d'acide carbonique ; sans avoir la même proportion de ce

gaz, l'air situé à la surface des prothalles en contient cependant beaucoup plus que l'air atmosphérique. Cela tient à ce que cet air est à l'abri des agitations, et peu renouvelé ; vu la grande densité de l'acide carbonique, le gaz produit par la respiration des Fougères tend à descendre et à enrichir les couches d'air voisines du sol ; l'assimilation des prothalles naturels se fait donc dans un mélange presque optimum.

En résumé, il ressort de cette étude que la sensibilité de l'appareil chlorophyllien est plus grande chez les prothalles que chez les plantes feuillées. Cette sensibilité paraît être en rapport avec la nature du feuillage plus ou moins épais de la Fougère-mère, et se manifeste d'autant mieux qu'elle agit sur un mélange gazeux beaucoup plus riche en acide carbonique que l'air atmosphérique.

De la sorte, une faible quantité de lumière suffit à assurer cette assimilation, laquelle serait insuffisante pour des feuilles de Phanérogames placées dans les mêmes conditions. Ainsi s'explique que la plupart des prothalles de Polypodiacées peuvent se développer à l'abri de la plante-mère, même dans les bois les plus feuillés.

CONCLUSIONS

I. — La culture des prothalles de Polypodiacées demande certaines conditions de milieu, lumière, température et humidité, que nous avons établies dans le chapitre I. Cette culture pouvant se faire en milieu stérile, les spores de Polypodiacées n'ont donc pas besoin d'endophyte pour germer et se développer comme celles d'Osmondacées.

II. — Ces spores ont la forme sphéro-tétraédrique, et sont souvent d'inégale dimension, mais leur volume n'influe en rien sur la sexualité des prothalles auxquels elles donnent naissance.

III. — Les premiers phénomènes de la germination des spores de Polypodiacées montrent que le prothalle se forme aux dépens d'une cellule apicale cunéiforme, et que le plan cellulaire est généralement terminal, contrairement à ce qui se passe chez les Schizéacées.

Le développement des organes reproducteurs est en relation avec la forme prothallienne, qui est elle-même sous la dépen-

dance du mode de cloisonnement de la cellule apicale cunéiforme.

Les anthéridies apparaissent avant les archégones, et celles-ci sont d'autant plus âgées qu'elles sont plus éloignées de l'échancrure du cœur.

La déhiscence des anthéridies des prothalles de Polypodiacées se fait par la cellule terminale, qui se déchire irrégulièrement, contrairement à ce qui a lieu chez les prothalles d'Hyménophyllées, Osmondacées, Cyathéacées et Gleicheniacées.

L'œuf commence à se cloisonner une semaine environ après la fécondation et donne rapidement une jeune fronde.

Le cloisonnement est parfois anormal, de sorte qu'on peut avoir un prothalle portant deux frondes pour une seule racine ou deux racines pour une seule fronde ; quelquefois même, surtout avec *Polystichum Filix-mas*, il y a fécondation de deux oosphères et formation, sur le même prothalle, de deux jeunes Fougères.

Les prothalles sont souvent unisexués, par suite de l'avortement des archégones ; dans ce cas, ils sont généralement mâles et de forme plus ou moins irrégulière ; il n'est pas rare non plus de trouver des prothalles stériles, surtout avec *Pteris cretica*.

Les phénomènes d'apogamie sont beaucoup plus fréquents que ne l'avait signalé DE BARY ; ils se produisent sur des prothalles mâles ou sur des prothalles hermaphrodites âgés et à oosphère non fécondée.

La multiplication par bulbilles, signalée par GÆBEL, n'a pas été retrouvée par nous, à moins que l'on n'entende par bulbilles des amas cellulaires passés à l'état de vie ralentie, et détachés accidentellement, amas parfaitement aptes à reproduire un prothalle.

Quant aux prothalles adventifs, ils se forment naturellement dans presque tous les genres d'Aspléniées, et on peut les faire naître artificiellement sur tous les prothalles de Polypodiacées

par section incomplète des ailes, en lobes de dimensions variées. Des morceaux de prothalles d'*Aspidium falcatum*, complètement détachés, ont même donné naissance à de nouveaux prothalles ; c'est peut-être ainsi qu'il faut entendre la multiplication par propagules, signalée par CRAMER, et en vain recherchée par nous.

IV. — L'influence des conditions extérieures sur le développement et la sexualité des prothalles de Polypodiacées est très marquée.

Le milieu nutritif doit être riche en substance azotée si l'on veut avoir des prothalles hermaphrodites ; dans le cas contraire, les prothalles sont généralement unisexués et dépourvus d'archégonies comme l'avait remarqué PRANTL avec *Osmonda regalis*.

La lumière solaire directe, nuit au développement du prothalle ; la lumière faible est indispensable à la formation des organes reproducteurs,

Les cultures sous verres de différentes couleurs sont : avec les verres bleus, de végétation moyenne ; avec les verres jaunes, rabougries ; avec les verres rouges, exubérantes et avec les verres violets, étendues en surface. La tendance à l'unisexualité est surtout manifeste avec les verres rouges.

La température élevée, favorise le développement de l'appareil végétatif du prothalle et accuse la tendance à l'unisexualité.

L'humidité est indispensable au prothalle, lequel, pour croître et fructifier, demande un air saturé ; l'époque des semis, elle-même, n'est pas sans influence sur la sexualité du prothalle.

V. — Il serait à désirer avec GÆBEL que l'on tienne compte de l'organographie des prothalles pour la classification des Fougères, actuellement basée exclusivement sur les caractères de la plante sexuée ; malheureusement, les formes prothalliennes sont encore trop mal définies, et ainsi que l'a montré PRANTL, trop sous

la dépendance des conditions extérieures, pour fournir des caractères précis et indiscutables.

VI. — L'étude histologique des prothalles montre que la membrane est en hémicellulose et peut être considérée comme une substance de réserve, de même que les matières amylacées, distribuées assez inégalement suivant les espèces.

Pour un même prothalle l'abondance de ces matières varie avec le milieu, la lumière et le nombre des grains de chlorophylle. La transformation de l'amidon en sucre, se fait par une diastase sécrétée par le pied de la jeune Fougère.

VII. — La théorie de TRAUBE semble permettre l'interprétation de certains phénomènes d'absorption, par les rhizoïdes. La tension superficielle du suc cellulaire des rhizoïdes étant approximativement de 7^{ms} 55, en donnant aux prothalles des solutions nutritives, de tension voisine de ce nombre, leur développement est normal. Les liqueurs de KNOPP et DETMER ayant des tensions inférieures, il paraît indispensable, pour avoir de belles cultures, de concentrer davantage ces solutions.

VIII. — Les prothalles ne présentent aucune trace de stomates ; l'émission de l'eau se fait à l'état liquide, surtout par les cellules des ailes prothalliennes.

La sudation est d'autant plus abondante que ces cellules sont moins riches en chlorophylle.

IX. — L'étude de la respiration des prothalles montre que la valeur du rapport $\frac{CO_2}{O}$ est comprise entre 0,81 et 0,90 ; elle se rapproche d'autant plus de l'unité que le prothalle est plus âgé.

X. — La chlorophylle apparaît de bonne heure dans les cellules prothalliennes. La solution alcoolique de cette chlorophylle est moins stable que celle des feuilles de Phanérogames. Les spectres donnés par les extraits alcooliques de chlorophylle des prothalles de Polypodiacées, indiquent un pouvoir absorbant moindre que les extraits de feuille de *Tilia*. L'étude directe de l'assimilation chlorophyllienne des prothalles par les échanges gazeux, mesurés avec l'appareil BONNIER et MANGIN, confirme ces résultats. Toutefois, l'appareil chlorophyllien des prothalles présente une sensibilité spéciale qui lui permet l'assimilation du carbone à une très faible lumière, même sous le couvert des plantes-mères.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Abréviations

- Arch. néer. — Archives néerlandaises.
An. bot. — Annales des Sciences naturelles, botanique.
Ber. bot. — Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft.
Bot. Zeit. — Botanische Zeitung.
B. Soc. bot. — Bulletin de la Société botanique de France.
C. R. — Comptes-rendus de l'Académie des Sciences.
Rev. gen. bot. — Revue générale de botanique.

Ouvrages

BAUKE. — *Entwicklungsgeschichte des Prothalliums bei den Cyatheaceen* (Pringsheim's Jahrb, t. X.)

BERNARD (Noël). — *Sur quelques germinations difficiles.* (Rev. gen. bot. 1900.)

BELAIEFF. — *Ueber den Nebenkern in spermatogenen Zellen und die Spermatogenese bei den Farnkräutern.* (Ber. bot. 1897.)

BONNIER (Gaston) et LECLERC DU SABLON. — *Cours de botanique.* (Paris 1905.)

BONNIER (Gaston) et MANGIN. — *L'action chlorophyllienne séparée de la respiration.* (An. bot., t. III, 1886.)

BUCHTIEN. — *Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von Equisetum.* (Rostock, 1887.)

BURCK. — *Sur le développement du prothalle des Aneimia, comparé à celui des autres Fougères.* (Arch. néer., t. X.)

CAMPBELL. — *The structure and development of the Mosses and Ferns.* (London. 1896.)

CRAMER. — *Ueber die geschlechtslose Vermehrung des Farn-prothallium namentlich durch Gemmen resp. Conidien.* (Denksch. der Schweiz. Naturforschenden Gesellschaft, 1880.)

DE BARY. — *Ueber apogame Farne und die Erscheinungen der Apogamie im Allgemeinen.* (Bot. Zeit., 1878.)

DUVAL-JOUVE. — *Histoire naturelle des Equisetum de France.* (Paris, 1864.)

ENGLEDER ET PRANTL. — *Die natürlichen Pflanzenfamilien.* (Leipzig. 1897.)

GÖBEL. — *Archegoniatenstudien.* (Flora, 1896.)

ID. — *Ueber Prothallien und Keimpflanzen von Lycopodium inundatum.* (Bot. Zeit., 1887.)

ID. — *Entwicklungsgeschichte des prothalliums von Gymnogramme leptophylla.* (Bot. Zeit., 1877.)

GUIGNARD. — *Développement et constitution des anthérozoïdes.* (Rev. gén. bot., 1889.)

HABERLANDT. — *Zur Kenntniss der Hydathoden.* (Jahrb. wiss. Bot., 1897.)

HEIM C. — *Untersuchungen über Farn-prothallien.* (Flora, 1896.)

HOFMEISTER. — *Beiträge zur Kenntnis der Gefässkryptogamen.* (Abh. d. k. sächs. Ak. d. Wissensch. 1857.)

KNY. — *Entwicklung von Aspidium Filix-mas.* (Botanische Wandtafeln. Berlin, 1874.)

ID. — *Ueber den Bau und die Entwicklung des Farn-antheridium.* (Monatsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Mai 1869. Berlin.)

ID. — *Die Entwicklung der Parkeriaceen, dargestellt an Ceratopteris thalictroides* (Dresden, 1875.)

ID. — *Ueber den Einfluss von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich theilenden Pflanzenzellen.* (Ber. bot., t. XIV, 1896.)

LEITGE. — *Ueber die Bilateralität der Prothallien.* (Flora. 1879.)

MARCHAL EL. ET EIN. — *Recherches physiologiques sur l'amidon des Bryophytes.* (Bulletin de la Société royale de botanique de Belgique, t. XLIII, 1906.)

METTENIUS. — *Ueber die Hymenophyllaceen.* (Abh. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. t. VII. 1864.)

PALLADINE. — *Influence des sels minéraux sur l'assimilation chlorophyllienne.* (C. R., 1899.)

ID. — *Influence de la lumière sur la formation des substances azotées dans le régime végétal.* (C. R., 1299.)

PEDERSEN. — *Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Vorkeimes der Polyodiaceen.* (Schenk et Luerssen, Mittheilungen aus dem Gesamtgebiete der Botanik, t. II.)

PRANTL. — *Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Bilateralität der Farn-prothallien.* (Bot. Zeit., 1879.)

RAUWENHOFF. — *Sur les premiers phénomènes de la germination des spores de Cryptogames.* (Arch. néer., t. XIV.)

ID. — *La génération sexuée chez les Gleichéniacées.* (Arch. néer. t. XXIV.)

ROSTOWZEW. — *Beiträge zur Kenntniss der Gefässkryptogamen.* (Flora, 1890.)

SCOTT. — *Germinating spores in a fossil Fern-sporangium.* (The new phytologist, 1904.)

SELIBER. — *Les conditions extérieures et la reproduction chez quelques groupes du règne végétal d'après les travaux de Klebs* (Rev. gén. bot. 1906.)

STRASBURGER. — *Die Befruchtung bei den Farnkräutern.* (Pringsheim's Jahrb., t. VII.)

SUMINSKI. — *Zur Entwicklungsgeschichte der Farnkräuter.* (Berlin. 1848.)

TIMIRIAZEFF. — *Sur la décomposition de l'acide carbonique par les parties vertes des végétaux.* (C. R., 1877.)

TRAUBE. — *Osmose, diffusion et tension superficielle.* (Journal de Chimie Physique, t. III. 1905.)

VAN TIEGHEM. — *Traité de botanique.* (Paris, 1884.)

VAN RISSELBERGHE. — *Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu.* (Bruxelles, 1899.)

WIGAND. — *Zur Entwicklungsgeschichte der Farnkräuter.* (Bot. Zeit. 1849.)

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE I. — Culture des prothalles de Polypodiacées.....	5
CHAPITRE II. — Spores de Polypodiacées	15
CHAPITRE III. — Organographie des prothalles de Polypodiacées	19
CHAPITRE IV. — Influence des conditions extérieures sur le développement et la sexualité des prothalles de Polypodiacées.....	53
CHAPITRE V. — Rôle des prothalles dans la classification des Polypodiacées	67
CHAPITRE VI. — Histologie des prothalles de Polypodiacées.	77
CHAPITRE VII. — Absorption par les rhizoïdes des prothalles de Polypodiacées.....	87
CHAPITRE VIII. — Transpiration des prothalles de Polypodiacées.....	93
CHAPITRE IX. — Respiration des prothalles de Polypodiacées.	97
CHAPITRE X. — Assimilation chlorophyllienne des prothalles de Polypodiacées.....	107
CONCLUSIONS.....	123
BIBLIOGRAPHIE.....	129

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOLOGIE. — Les Volcans d'Auvergne.

ZOOLOGIE. — Le Pancréas des Vertébrés : anatomie comparée, histologie.

Vu et approuvé :

Paris, le 25 Juillet 1908.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Paul APPELL.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

L. LIARD.

